

Aus der II. inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln
Chefärztin: Prof. Dr. med. Irene Boll

**Die Wirkungen von Echinacin
auf Knochenmarkkulturen bei zytologisch
unverändertem Knochenmark sowie
auf Blutkulturen bei chronisch-myeloischer Leukämie,
Osteomyelosklerose und
akuter nichtlymphatischer Leukämie**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Martin Krause
aus Kleve

1984





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548817_0082

Aus der II inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln

Chefärztin: Prof. Dr. med. Irene Boll

Die Wirkungen von Echinacin
auf Knochenmarkkulturen bei zytologisch unverändertem
Knochenmark sowie
auf Blutkulturen bei chronisch-myeloischer Leukämie,
Osteomyelosklerose und akuter nichtlymphatischer Leukämie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Martin Krause
aus Kleve

Referentin: Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. med. D. Huhn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 27. 9. 1984

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	7
2. Material und Methode	16
3. Ergebnisse	22
4. Zusammenfassung der Ergebnisse	52
5. Diskussion	65
6. Zusammenfassung der Arbeit	77
7. Literaturverzeichnis	79
8. Anhang	95
9. Danksagung	98
10. Lebenslauf	100

1. EINLEITUNG

Bei der Therapie der Blutkrankheiten unterscheidet man heutzutage zwischen Maßnahmen, die die Blutbildung fördern und solchen, die die Blutbildung hemmen (4). Fördernd wirken etwa Eisen, Arsen, Phosphor, Lithium, bestimmte Vitamine sowie die Hormone Thyroxin, STH (Wachstumshormon), ACTH und Steroide. Hemmende Wirkung dagegen haben Zytostatika, ionisierende Strahlen und radioaktive Isotope.

Kombinierte Gaben von Zytostatika und Steroidhormonen kommen insbesondere bei der Behandlung von Neoplasien des blutbildenden Knochenmarkes zur Anwendung. Die vielfältigen unerwünschten Nebenwirkungen der Zytostatika (Knochenmarkdepression, Depression des lymphatischen Systems, Hemmung der Spermatogenese, ulcerative Gastroenteritis, Haarausfall, starke subjektive Beschwerden u.a. (98)) können durch Steroide teilweise vermindert werden. Aber auch die Steroide verursachen, vor allem in der Langzeittherapie, beachtliche negative Begleiterscheinungen: Wasserretention, Elektrolytverschiebung, Hyperkortizismus mit M. Cushing-ähnlichen Bildern, Steroiddiabetes, Resistenzminderung mit Erhöhung der Infektionsbereitschaft, Kreislauf labilität, Reduktion der Muskelkraft u.a. (4). Letztendlich unklar ist auch heute noch der genaue Wirkungsmechanismus der Steroidhormone: diskutiert werden eine Stimulation zur Ausreifung der normalen Granulopoese (besonders bei akuten Leukämien) sowie eine Hemmung der pathologisch gewucherten Myeloblasten (neben einer Hemmwirkung auf das lymphatische Gewebe).

Auf der Suche nach Medikamenten, die die Wirkung der Steroidhormone unterstützen, aber geringere Nebenwirkungen aufweisen, beschreibt BOLL (9) die Wirkung von Endotoxinen (Lipopolisaccharide aus Bakterienmembranen von E.coli, Salmonella u.a.) auf den Reservespeicher als auch auf den Reifungsspeicher im Knochenmark. Auch das pflanzliche Pyrogen Echinacin® (Warenzeichen der Firma Madaus & Co., Köln), dessen Wirkung auf den Reservespeicher des Knochenmarkes mehrfach dokumen-

tiert ist (25, 26, 27, 31, 57, 58, 59, 64), kann hypothetisch einen solchen Effekt auch auf den Reifungsspeicher des Knochenmarks ausüben, obwohl die chemische Zusammensetzung nur teilweise Gemeinsamkeiten mit den bakteriellen Endotoxinen aufweist (s.u.).

PROBLEMSTELLUNG

Eine unterstützende Wirkung der heute üblichen Therapie bei Neoplasien des blutbildenden Knochenmarks darf für Echinacin dann angenommen werden, wenn folgende Fragen positiv beantwortet werden können:

1. Kann Echinacin bezüglich seiner Wirkungen und Nebenwirkungen bei Patienten mit Neoplasien des blutbildenden Knochenmarks angewendet werden?
2. Kann Echinacin die normale Granulopoese im Sinne einer Steroidwirkung stimulieren?
3. Kann Echinacin eine Ausreifungshemmung durchbrechen (insbesondere bei akuten nichtlymphatischen Leukämien)?
4. Kann Echinacin Antibiotika sparen helfen, wenn gleichzeitig eine systemische Schwächung der Infektabwehr vorliegt (z.B. bei akuter Leukämie, Tonsillitiden, Stomatitiden, Zahnfleischnekrosen etc.)?

Während sich die Punkte 1. und teilweise auch 4. nur durch klinische Studien beantworten lassen, wird man über Punkt 2. und 3. gezielte Aussagen anhand von Knochenmark- und Blutkulturen in vitro machen können.

DAS MEDIKAMENT

Echinacin ist ein haltbar gemachter Preßsaft aus *Echinacea purpurea* Moench (roter Sonnenhut), einer Pflanze, die in den

mittleren und östlichen USA auf Prärien und Sandbänken wächst. Sie hat eine rotviolette Blüte in den Monaten Juli und August (Korbblütler), wächst etwa 70 - 130 cm hoch, hat eine bodennahe Blattrosette, von der die langen Blütenstiele mit rauhen, meist gesägten Blättern emporsteigen, von denen die unteren fünfnervig-oval und lang gestielt, die oberen oval-lanzettförmig sind (56, 62, 79, 82).

Der indianischen Urbevölkerung als Mittel gegen Schlangenbisse und eitrige Wunden bekannt, findet es im europäischen Raum spätestens ab dem 18. Jahrhundert ebenfalls Verwendung (SCHOEPF, 1787 (84): "Radix sapore acri et fervidissimo ad ulcera equorum dorsalia sananda ..."). Wurde bis zur Jahrhundertwende nur die Wurzel zubereitet, gelangt heute die ganze frisch blühende Pflanze einschließlich Wurzel (*Planta tota recens florida*) zur Anwendung (53, 82), und zwar äußerlich lokal wie innerlich systemisch (63).

Die bisher isolierten Inhaltsstoffe sind (53, 82, 90, 92, 95):

- ätherische Öle (Gemische aus Alkoholen, Aldehyden, Ketonen, Estern, Lactonen, schwefel- und stickstoffhaltige Verbindungen, (Tri)terpenen etc.)
- Glyceride
- Tannine (Gerbsäuren)
- Phenolsäure
- Inulin, Glucose, Laevulose
- Polysaccharide
- Betain (Trimethylderivat des Glykokolls)
- Enzyme: Katalase, Oxydase, Peroxydase
- Ascorbinsäure
- Sulfate, Karbonate, Silikate
- Erdkali, Magnesium, Eisen, Aluminium
- gesättigte Fettsäuren: Palmitin-, Stearin-, Carotin- und Myristinsäure
- ungesättigte Fettsäuren: Linol-, Linolen- und Ölsäure
- Proteine (Glykoproteine)
- einfache Kohlenwasserstoffe
- Polyine (Isobutylamide)

- Echinacein (ebenfalls ein Isobutylamid)
- Echinolon (10-Hydroxy-4,10-dimethyl-4,11-dodecadien-2-on)
- Echinacosid (Kaffeensäure-Brenzcatechin-Äthanoltriglycosid)

Der Wirkstoffgehalt beträgt 5% (0,1g/2ml) bei intravenöser Anwendung.

Die Hauptwirkungen des Echinacins lassen sich grob unterteilen in:

1. örtliche Gewebewirkung
2. systemische Wirkung

ad 1.

Bis heute herrscht Unklarheit darüber, welches der oben angegebenen Bestandteile Auslöser der allgemeinen Immunstimulation ist. In vitro-Versuche zeigen, daß Echinacin das Mikrowachstum eher fördert, also selbst nicht bakterizid oder viruzid wirkt (53, 82). Vermutlich aber bewirkt die wasserlösliche Polysaccharidfraktion mit einem Molekulargewichtsbe- reich zwischen 5000 und 50.000 eine - experimentell bestätig- te - Interferonisierung ähnlich der virusbedingten Interfe- ronisierung (18, 68, 95). Ein Schutz gegen Testviren bleibt allerdings nur über 24 Stunden erhalten; nach Ablauf von wei- teren 24 Stunden kommt es wieder zur ursprünglichen Empfind- lichkeit der Zellen.

Auch die zelluläre unspezifische Abwehr wird allein durch die Echinacin-Polysaccharidfraktion deutlich erhöht, da einmal die Phagozytoserate - meßbar im Carbon-Clearence-Test - durch Aktivierung des RES signifikant steigt (6, 95), zum anderen die Blastogenese nach Kontakt mit einem Mitogen - meßbar im T-Lymphozyten-Transformationstest - etwa 20-30% stärker stimuliert wird als mit dem Kontrollstoff Phytohämag- glutinin M (Lectin) (95). Beim Jerne-Plaques-Test bewirkt Echinacea-Polysaccharid einen signifikanten Anstieg der Zahl der antikörperbildenden Zellen in der Milz (81, 95).

Histogene wie hämatogene Phagozyten (neutrophile Granulo-

zyten, Makrophagen) werden aktiviert (53, 81), die Opsonierungsfähigkeit der Granulozyten heraufgesetzt (91), ihre Neubildung im Knochenmark vermutlich angeregt (80) und stärkere Phagozytenrandsäume bei Infektionsherden ausgebildet (53). Bei Wunden kommt es zu einer ausgeprägten Bildung von Granulationsgewebe, Hyperämie bei Kapillarreichtum und geringeren Lymphozytenansammlungen, da für diese die Diffusion im Wundbett durch geringere Gefäßpermeabilität erschwert ist; die Nekroserate transplanteder Hautlappen ist signifikant gesenkt (48, 53, 81, 90).

Mit Echinacin vorbehandeltes Gewebe verhindert im Tierversuch bei künstlicher Herdsetzung eine Entzündungsreaktion, da die Erreger frühzeitig abgetötet werden (53).

Wichtig für die Verhinderung der Ausbreitung von Erregern im Bindegewebe ist einmal die Aktivierung von Fibroblasten und Fibrozyten und damit eine vermehrte Herstellung von Hyaluronsäure und Chondroitinschwefelsäure, zum anderen eine direkte Hemmung der (Bakterien-)Hyaluronidase (spreading factor). Damit wird die Passage für Bakterien durch ein Gewebe erschwert, da der Polymerisationsgrad der Hyaluronsäure (funktionelle Gewebekittsubstanz) erhalten bleibt (18, 48, 51, 53). Weiterhin erwähnenswert ist eine antiphlogistische Wirkung (81) als auch eine um 50% höhere Überlebensrate bei Testtieren im LD 50 - Strahlenbelastungstest (95).

ad 2.

Die systemische Wirkung einer intravenösen Injektion von Echinacin führt zu humoralen und zellulären Änderungen in der Blutbahn sowie zu Organwirkungen.

Ähnlich dem Adrenalin setzt es ACTH in der Hypophyse frei, welches wiederum die Nebennierenrinde aktiviert und die Ausschüttung von Glukokortikoiden und (in geringerem Umfang) Mineralkortikoiden verursacht (49, 51, 60, 66).

Bei Testtieren wurde festgestellt, daß sich die jeweiligen Organgewichte von Nebennieren (49), aber auch von Milz und Leber erhöhen (6). In der Nebennierenrinde kommt es zu einer

Verbreiterung der Zona fasziolaris und retikularis und einer Auflockerung der Zellverbände bei vermehrtem Flüssigkeitsgehalt. Im Dünnschnittpräparat ist die Mitosehäufigkeit in der NNR über drei Tage signifikant erhöht, nach fünf Tagen jedoch wieder auf durchschnittliche Werte abgesunken. (Die Gewichtserhöhungen von Milz und Leber bleiben ungeklärt.) Auf eigene Weise und nicht über den Steroideffekt fördert Echinacin die Phagozytoseleistung des RES, da das RES im Gegenteil durch Steroide gehemmt wird (übrigens auch durch Antibiotika; dieser Effekt läßt sich allerdings durch gleichzeitige Gabe von Echinacin aufheben) (6).

Echinacin wirkt auf den gesamten Organismus im Sinne des etwas älteren, von HOFF propagierten physiologischen Konzeptes der "vegetativen Gesamtschaltung" mit Vorphase, sympathikotoner und parasympathikotoner Phase (44, 69, 70, 71).

Die Vorphase, etwa 30-90 Minuten post injektionem von 1-3 ml Echinacin i.v., ist gekennzeichnet durch eine Leukozytopenie, die nachweislich durch das Differentialblutbild alle Zelltypen der weißen Reihe erfaßt. Nach etwa 1,5-2 Stunden kommt es zu einem Anstieg der Basaltemperatur abhängig von der Menge des injizierten Pyrogens und einer starken, linksverschobenen Leukozytose mit relativer Lymphopenie, Eosinopenie und Monozytopenie als Zeichen einer Aktivierung der NNR. Bereits nach 3-6 Stunden ist ein deutlich erhöhter Gehalt von 17-Hydroxy-Steroiden im Harn nachweisbar. Nicht nur die Zellzahl, sondern auch die Zellaktivität ist gesteigert, nachweisbar durch einen erhöhten alkalischen Leukozytenphosphatase-Spiegel und einer Vermehrung der Phagozytoserate, parallel zu erhöhtem Sauerstoffverbrauch, stärkerer Glykolyse, Abnahme des intrazellulären Glykogens bei gleichzeitigem Anstieg des Milchsäurespiegels (Azidose). Ferner sind nachweisbar: Anstieg der Retikulozytenzahl, Anstieg des Serumeiweißspiegels, Abfall des Albumin/Globulin-Quotienten, Abfall des Blutfettspiegels einschließlich des Cholesterins, Anstieg des Blutzuckerspiegels, Vermehrung der Ketonkörper, Anstieg des Kreatininspiegels, Abfall des K/Ca-Quotienten, Abfall des Properdin-

spiegels, vermehrte fibrinolytische Aktivität, Anstieg des Ascorbinsäurespiegels (49), weniger Plasmaeisen und mehr Plasmakupfer. Dieses ist das Vollbild der sympathikotonen Phase.

Die parasympathikotone Phase wird etwa 12 Stunden post Injektionem eingeleitet, indem sich alle der oben genannten Parameter innerhalb von 24-48 Stunden wieder normalisieren, wobei der Properdinspiegel (65) darüber hinaus etwa eine Woche lang erhöht bleibt (25, 26, 27, 40, 43, 44, 49, 60, 64, 66, 69, 70, 71).

Bezüglich der Aktivierung von Hypophyse und NNR entspricht 1 ml Echinacin etwa 0,3 mg Adrenalin (nachweisbar im THORN-Test) (60).

Die oben genannten Reaktionen des Organismus auf intravenöse Echinacin-Zufuhr lassen sich nicht nur therapeutisch, sondern auch durch Funktionstests ausnutzen. Bereits seit mehreren Jahrzehnten werden Endotoxine eingesetzt, etwa zur Abklärung von Bestrahlungs-Leukopenien wie Pyripher (Aufschwemmung von Eiweißkörpern apathogener E.coli) oder Pyrexal (hochgereinigtes, azetyliertes Lipopolysaccharid von Salmonella abortus equi) (3, 29).

Aber auch Echinacin wird seit 1948 - zunächst im Zusammenhang mit der Gonorrhoe-Behandlung - gezielt eingesetzt im Hinblick auf die Leukozytenprovokation (57).

Heute wird im Provokationstest mit Echinacin die Knochenmarkreserve nach Strahlentherapie u.a. beurteilt (25, 26, 27, 64). Innerhalb von drei bis fünf Stunden kommt es zu einer Reizleukozytose, die den Ausgangswert um das Doppelte bis Mehrfache übersteigt. Insbesondere die unreiferen Zellen (Metamyelozyten, Stabkernige) überwinden die physiologische Barriere der Sinusendothelien, so daß es zu einer ausgeprägten Linksverschiebung kommt (bei Lympho- und Eosinopenie).

Mit Hilfe des H3-Thymidin-Tests wird nachgewiesen, daß die Granulozyten nicht aus dem marginalen Randspeicher, sondern tatsächlich aus der Knochenmarkreserve stammen (25). Beim Einsatz einer langfristigen Vierfelder- oder Großfelderthera-

pie beobachtet man insbesondere eine Reduzierung der Stabkernigen beim Provokationstest (64). Auch zur Verlaufskontrolle von viraler Hepatitis epidemica, welche bei Kindern zuweilen eine irreversible aplastische Anämie (Panmyelopathie) verursacht, läßt sich Echinacin diagnostisch einsetzen (58, 59). Bei Colitis ulcerosa kommt es zu einem schwächeren Anstieg der Granulozytenzahl bei erhöhter Ausgangslage. Die alkalische Leukozytenphosphatase zeigt dabei eine gesteigerte Aktivität (diagnostischer Hilfstest) (31).

Therapeutisch letztendlich gelangt Echinacin systemisch zur Anwendung, wenn die Steigerung der körpereigenen Abwehr bei subakuten und chronischen Fällen von bakteriellen und viralen Infektionen oder eine Reaktivierung des Krankheitsprozesses angestrebt wird (63), z.B. bei Infektionskrankheiten wie Grippe (45, 80), chronischer Bronchitis (91), Tuberkulose (34, 39, 40, 69) einschließlich Meningitis tuberculosa, Keuchhusten (76), Asthma (80), chronischer Infektprostatitis und benigner Prostatahyperplasie im Stadium I (96), Spondylarthrititis ankylopoetica (93), primär-chronische Polyarthrititis (47, 65, 67, 71, 80), Psoriasis einschließlich psoriatischer Erythrodermie, Psoriasis arthropathica und pustulosa (52), endogenes Ekzem im chronischen Stadium (89), ferner eine weitere Zahl von subakuten und chronischen Entzündungen im chirurgischen, gynäkologischen, urologischen, dermatologischen und otorhinolaryngologischen Bereich (63).

Diese Arbeit soll klären,

1. ob Echinacin die Proliferation der normalen Granulopoese anregt oder (im negativen Fall) nur eine Verteilungsänderung hervorruft, die bislang für den Echinacin-Provokationstest nachgewiesen werden konnte. Damit wäre demonstriert, daß Echinacin im Organismus auf eigene Weise und nicht nur mittels der freigesetzten Steroide bzw. analog dem Kortikoid-Provokationstest (z.B. Prednisolon 50-80 mg p.o.) auf die Zellen der Granulopoese in Knochenmark und Blutbahn wirkt (siehe auch Diskussion).

2. ob eine etwaige Anregung der Proliferation auch bei chronisch-myeloischer Leukämie (CML), Osteomyelosklerose (OMS) oder akuter nichtlymphatischer Leukämie (ANLL, hier akute monozytäre (AMoL) bzw. myeloische Leukämie (AML)) wirksam wird, was therapeutische Konsequenzen hätte.

(Prinzipielle Überlegungen, Echinacin bei der allgemeinen Tumorthherapie einzusetzen, wurden bereits von MOSTBECK und STUDLAR (66) und von ORZECOWSKI (71) angestellt: gedacht wurde an den stark erhöhten Properdinspiegel nach Echinacin-Applikation (der bei Tumorpatienten grundsätzlich nieder ist) als auch an den Hyaluronidasehemmeffekt, der evtl. Tumorausbreitung und Metastasierung einschränkt.)

2. MATERIAL UND METHODE

Knochenmark von vier Patienten mit Veränderungen des peripheren Blutbildes (bzw. M. Hodgkin) bei zytologisch unverändertem Knochenmark sowie Blut von sechs Patienten mit den klinischen Diagnosen CML (n=3), OMS (n=1) und akute nichtlymphatische Leukämie (n=2) wurde benutzt zur Herstellung von Knochenmark- und Blutkulturen.

Knochenmarkkultur (1o): Rotes Knochenmark wird mittels einer Sternal- oder Beckenkammpunktion gewonnen. Die Markbröckchen werden in Hanks-Lösung aufgefangen (unter Zusatz von 4 Tropfen Heparin je 100 ml). Zur Herstellung einer Zellsuspension wird das Mark durch Kanülen abnehmenden Durchmessers gezogen und der fettige Anteil verworfen.

Nun wird die absolute Zellzahl in der (Schilling-)Zählkammer bestimmt. In Abhängigkeit von der Zellkonzentration wird mit RPMI-Medium soweit verdünnt, daß eine endgültige Einstellung des Ansatzes auf etwa 2.000 (1.000-3.000) Zellen/ μ l erreicht wird.

Der Kontrollansatz enthält:

- 1,8 ml Zellsuspension in RPMI-Medium mit 200 mg% Glucose und 200 mmol L-Glutamin
- 1,2 ml tiefgefrorenes und kurz vor dem Verbrauch erwärmtes nicht-homologes AB-Plasma (entspricht 40%)
- 2 Tropfen Strepto-Binotal

Der Ansatz mit Echinacin wird in zwei verschiedenen Konzentrationen durchgeführt (ausgenommen die erste Blutkultur, s.u.):

- 1,0 ml Zellsuspension mit Zusatz s.o.
- 0,8 ml AB-Plasma (entspricht 40%)
- 0,2 ml Echinacin mit 20 mg/ml bzw. 2 mg/ml Wirkstoffgehalt (verdünnt im Verhältnis 1:5 mit RPMI-Medium)
- 1 Tropfen Strepto-Binotal

Die endgültige Echinacinkonzentration beträgt somit 2,0 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml. Je 0,5 ml der Ansätze werden in ein Eppen-

dorfgefäß gegeben und bei 37°C für 24, 48 oder 72 Stunden im Brutschrank aufbewahrt. Es erfolgt je Kulturtag ein Ausstrich in der (Shandon-)Zytozentrifuge bei 500 U/min für 5 min. Anschließend werden die Präparate nach Pappenheim mit May-Grünwald- und Giemsa-Lösung panoptisch gefärbt (11) und differenziert. Ein Originalpräparat wird zum Zeitpunkt 0 Stunden angefertigt (hier nur Verdünnung mit RPMI-Medium, Zytozentrifuge).

Blutkultur: Vor der Blutentnahme wird die Spritze mit Heparin ausgespült. Das gewonnene Blut wird im Verhältnis 1:6 mit Macrodex verdünnt und anschließend zum Abstehen solange senkrecht gelagert, bis die Erythrozyten abgesunken sind. Die so entstandene Zellsuspension (Plasma mit kernhaltigen Zellen) wird abgesaugt und in ein steriles Gefäß gegeben. Auch hier wird die Zellsuspension unter Zugabe von RPMI-Medium auf etwa 2.000 Zellen/ μ l im Gesamtansatz eingestellt. Der weitere Ablauf ist dem der Knochenmarkkultur identisch.

Die Auswertung der Präparate (Originalpräparat, Kontrolle, Echinacin-Kultur 2,0 mg/ml und Echinacin-Kultur 0,2 mg/ml nach jeweils 24, 48 und 72 Stunden) erfolgt mit Hilfe eines Ölimmersionsmikroskopes bei 1.000-facher Vergrößerung.

Die Zelldifferenzierung wird nach den Kriterien von BOLL (11) und nach den Atlanten von HECKNER (38) und WENDT (99) vorgenommen:

1. Die kernhaltigen Zellen der Erythropoese (rote Reihe)

Proerythroblast	(PE)
basophiler Erythroblast	(bE)
polychromatischer Erythroblast	(pE)
oxyphiler Erythroblast	(oE)
reifer Erythroblast	(rE)
2. Die Zellen der Granulopoese und Monopoese (weiße Reihe)

Myeloblast (einschl. Monoblast)	(Mb1)
Promyelozyt	(Prom)
Myelozyt	(Myel)

eosinophiler Myelozyt	(Myel)
basophiler Myelozyt	(Myel)
Promonozyt	(Promono)
Metamyelozyt	(Meta)

Die eosinophilen und basophilen Myelozyten sowie die Promonozyten werden wegen zu geringer Fallzahlen in den Tabellen und Berechnungen den (neutrophilen) Myelozyten zugerechnet.

Stabkernige	(Stab)
Segmentkernige	(Segm)
eosinophile Segmentkernige	(Segm)
basophile Segmentkernige	(Segm)
Monozyten	(Mono)
Makrophagen	(Makr)

Die eosinophilen und basophilen Segmentkernigen sowie die Monozyten werden wegen zu geringer Fallzahlen in den Tabellen und Berechnungen den (neutrophilen) Segmentkernigen zugerechnet.

Als teilungsfähige Granuloblasten (Gbl) werden die Vorläuferzellen der Granulo- und Monopoese bezeichnet (Myeloblast bis Metamyelozyt einschließlich) und gehen in die Berechnung des (weißen) Mitoseindex ein.

3. Weitere Zellkategorien

Retikulum: große Retikulumzelle	
kleine Retikulumzelle	
Lymphopoese: Lymphozyt	(Ly)
Immunoblast	
Plasmazelle	
Megakaryopoese: Megakaryoblast	
Megakaryozyt	

Die Anzahl dieser Zellen mit Ausnahme der Lymphozyten ist so gering, daß sie darüber hinaus abseits der Fragestellung nicht in den Tabellen und Berechnungen berücksichtigt werden.

Es sind 2.000 Zellen je Präparat bei den Knochenmarkkulturen und 500 Zellen je Präparat bei den Blutkulturen differenziert worden, so daß nach Abschluß der Untersuchungen die Ergebnisse über insgesamt 108.500 Zellen den Berechnungen zugrundegelegt worden sind.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt anhand von Kriterien der Proliferationskinetik:

- Mitoseindex
- karyologische Kurve (nur bei der Knochenmarkkultur)
- Reifungskurven
- Reifungsindex

Mitoseindex: Hier werden alle Mitosephasen von der Prophase bis zur Rekonstruktionsphase (s.u.) in Verhältnis zu den teilungsfähigen Vorstufen der weißen Reihe gesetzt. Er ist ein Maß für die Regeneration des Knochenmark- bzw. Blutgewebes, wobei durch Vervielfältigung die Zahl der teilungsfähigen Vorstufen erhöht wird.

Im einzelnen werden folgende Mitosephasen unterschieden (9):

- Prophase (P): Die Kernmembran und die Nukleolen sind aufgelöst, die Chromosomen als dichte Fäden oder Stäbchen im festen Spirem mit farblosen Zwischenräumen sichtbar;
- frühe Metaphase (fM): Die Chromosomen liegen ungeordnet im lockeren Spirem über die Zelle verteilt;
- späte Metaphase (sM): Stadium der Äquatorialplatte, die in der Aufsicht als Monaster mit sternförmig angeordneten Chromosomen erkennbar ist;
- Anaphase (A): Die Chromosomen sind in zwei Gruppen angeordnet und bilden einen Diaster;
- Telophase (T): Die Taillembildung des Zelleibes ist erkennbar, die Chromosomen der Tochterzellen liegen in den beiden Zellhälften als lockeres Dispirem;
- Rekonstruktionsphase (R): Zwischen beiden sich spiegelbildlich gleichenden Tochterzellen ist gelegentlich noch ein feiner Zytoplasmafaden erkennbar; die Chromosomen jeder

Zelle liegen im festen Dispirem, Kernmembran und Nukleolen sind noch nicht wieder ausgebildet.

Karyologische Kurve: Bei dieser Kurve werden auf der Abszisse die sechs verschiedenen Mitosephasen aufgetragen und auf der Ordinate der prozentuale Anteil der jeweiligen Mitosephase angegeben. Ablesbar werden etwaige Einflüsse des Echinacins auf den Mitoseablauf.

Reifungskurven: Es werden grundsätzlich zwei verschiedene Reifungskurven angegeben: zum einen diejenigen der Differentialzählung, zum anderen diejenigen der Umrechnung der prozentualen Anteile auf die absolute Zellzahl/ μ l Zellsuspension. Diese letztere Reifungskurve ist nur bedingt aussagekräftig, da bei der Bestimmung der absoluten Zellzahl eine Vielzahl von Fehlerquellen die Ergebnisse verfälschen können. Bei der Signifikanzberechnung werden die teilungsfähigen Granuloblasten, die Stabkernigen, die Segmentkernigen und Monozyten sowie die Makrophagen berücksichtigt. Hier können die Einflüsse des Echinacins auf die Zelldifferenzierung erfaßt werden.

Reifungsindex (11): Dieser Index ist ein Kriterium für den Grad der Ausreifung der weißen Reihe. Er errechnet sich aus dem Verhältnis von Granuloblasten zu Granulozyten (Gb/Gz).

Die Berechnungen wurden mit Hilfe des χ^2 -Verfahrens für zwei Merkmale bei zweifacher Stufung gemacht (4-Felder- χ^2 -Test) (17). Dabei werden voneinander abhängige Merkmale (z.B. Zahl der Mitosen in Abhängigkeit von der Anzahl der teilungsfähigen Zellen) für einen bestimmten Zeitpunkt (Kulturtag) zwischen Kontrollansatz und Echinacinansatz verglichen. Berechnungen für den gesamten Kulturzeitraum (72 Stunden) in Abhängigkeit vom Kulturtag mittels einer Konfigurationsfrequenzanalyse für mehrfach gestufte Merkmale ist deswegen ungünstig, weil die Ergebnisse nicht immer einheitlich in eine

Richtung gehen und somit viele Interpretationen das Ergebnis klären müßten. Sie wird hier nicht angewendet.

Beispiel:

Kontrollansatz: 11 mitotische Zellen bei 2.158 nicht mitotischen, aber teilungsfähigen Zellen (gesamt 2.169)

Echinacinansatz: 27 mitotische Zellen bei 2.013 nicht mitotischen, aber teilungsfähigen Zellen (gesamt 2.040)

2. Kulturtag bei den Knochenmarkkulturen

	MITOTISCHE ZELLEN	NICHTMITOT. ZELLEN	ZEILEN- SUMME
KON.	B=11 E=19,6 $\chi^2=3,77$	B=2158 E=2149,4 $\chi^2=0,03$	2169
ECH.	B=27 E=18,4 $\chi^2=4,02$	B=2013 E=2021,6 $\chi^2=0,04$	2040
SPALT- SUM.	38	4171	GESAMTSUMME 4209

B = Beobachtungswert

E = Erwartungswert = Spaltensumme x Zeilensumme / Gesamtsumme

$$\chi^2 = \chi_1^2 + \chi_2^2 + \chi_3^2 + \chi_4^2 = 3,77 + 0,03 + 4,02 + 0,04 = 7,86$$

Die Anzahl der Freiheitsgrade bestimmt sich nach der Formel $(r-1) \cdot (c-1)$, hier also $(2-1) \cdot (2-1) = 1$

Folgender Bewertungsmaßstab wurde angewendet:

nicht signifikant	$p < 0,75$
zweifelhaft	$0,75 \leq p < 0,90$
signifikant	$0,90 \leq p < 0,99$
hochsignifikant	$0,99 \leq p$

Bei diesem Beispiel muß die Alternativhypothese, nämlich daß ein kulturspezifischer Unterschied bezüglich der Mitoserate besteht, angenommen werden, da $p \geq 0,99$ (siehe Tabelle) (17).

3. ERGEBNISSE

(Alle Angaben in Klammern beziehen sich nur auf diejenigen Kulturen, denen 0,2 mg Echinacin/ml zugefügt ist.)

Knochenmarkkultur Nr. 1

Patient: H., G.; männl., geb. am 02.05.33

Klinische Diagnose: rezidivierende Neutropenie mit relativer Lymphozytose und relativer Eosinophilie

Sternalpunktat vom 18.01.82

Bewertung (nach BOLL (11)):

- Ausstrich: mittlere Zelldichte, fettreich
- Retikulum und Lymphopoese: phagozytierende Histiozyten stark vermehrt, Blutlymphozyten vermehrt
- Granulopoese: wenig vermindert, Mitosen vorhanden, POX und PAS gut positiv, Eosinophile vermehrt, Basophile vermehrt, Monozyten normal, α -NA-Esterase positiv
- Erythropoese: wenig vermehrt, Mitosen vorhanden, keine Sideroblasten oder Siderozyten
- Thrombopoese: Megakaryozyten in allen Reifestufen vorhanden, PAS gut positiv
- Diagnose: Granulopoese gegenüber angeregter Erythropoese relativ vermindert, aber gut ausgereift (Gb/Gz = 1,0); Eosinophile und Lymphozyten vermehrt

Blutbild vom 18.01.82

Hb	16,4 g/dl		
Hk	48,5 Vol-%	Segm	34
Ery	5,63 Mill/ μ l	Eos	6
MCH	29,1 pg	Bas	1
MCV	87,0 nl	Mono	6
MCHC	33,8 g/dl	Ly	53
Leuko	4.200/ μ l	(davon 4 atypisch)	
Thrombo	219.000 / μ l		

Medikamente zum Zeitpunkt der Sternalpunktion:

keine

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 24/25):

- Mitoseindex: nur bei der höheren Konzentration vom zweiten Kulturtag ab eindeutig erhöht
- teilungsfähige Granuloblasten: stetige Abnahme zuungunsten der Myelozyten (und Metamyelozyten), bei der höheren Konzentration vorübergehende Anregung der Myeloblasten und Promyelozyten
- Stabkernige: bei der höheren Konzentration stark verringert, gegenteilig bei der niedrigeren Konzentration
- Segmentkernige: nur bei den höheren Konzentrationen deutlich vermehrt
- Reifungsindex: stärkere Ausreifung an allen drei Kulturtagen
- Makrophagen: geringfügige Unterschiede
- Lymphozyten: gegenüber der Kontrolle linear vermindert (vermehrt)
- Erythropoese: Anteil der polychromatischen zuungunsten der basophilen bzw. oxyphilen Erythroblasten vermehrt, am 3. Kulturtag etwas mehr reife Erythroblasten (ab 2. Kulturtag Ergebnisse unsicher wegen zu geringer Zellzahl; dieses gilt auch für die folgenden drei Knochenmarkkulturen bezüglich der Erythropoese)
- absolute Auftragung: teilungsfähige Granuloblasten sowie Stabkernige ohne eindeutige Tendenz, Segmentkernige und Ma-

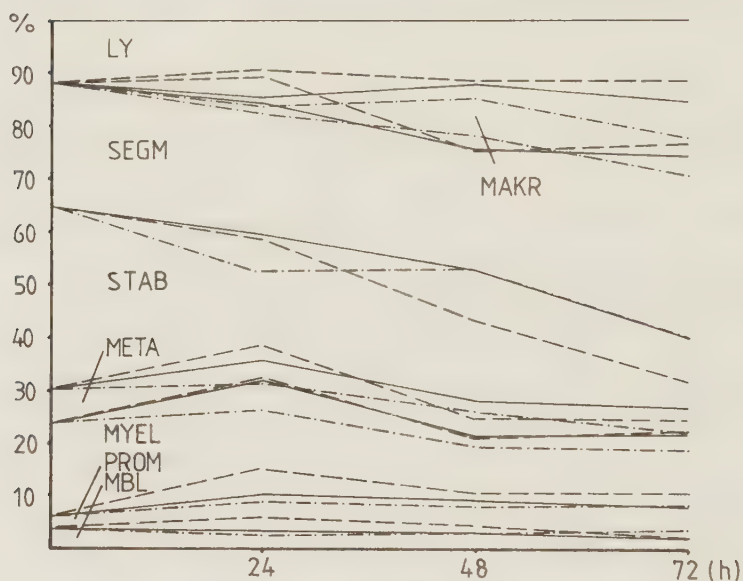
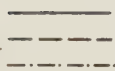
KNOCHENMARKKULTUR NR.1 (NEUTROPENIE)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

KONTROLLE

ECHINACIN 20MG/ML

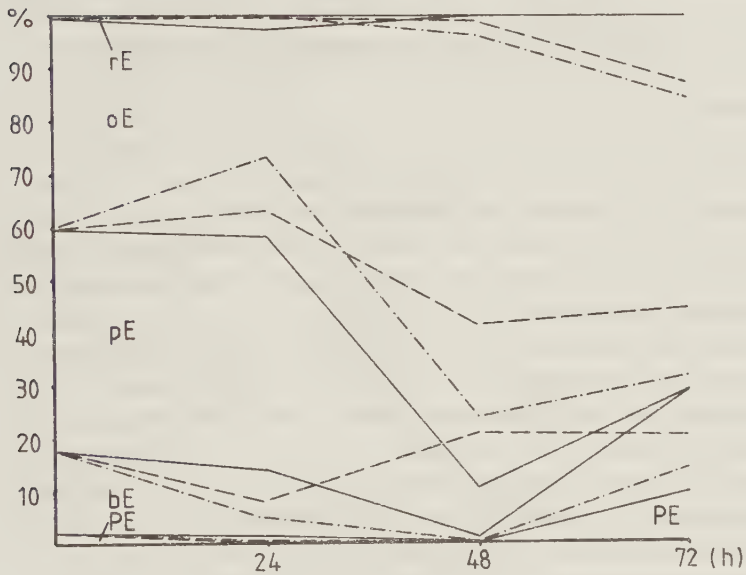
ECHINACIN 0,2MG/ML



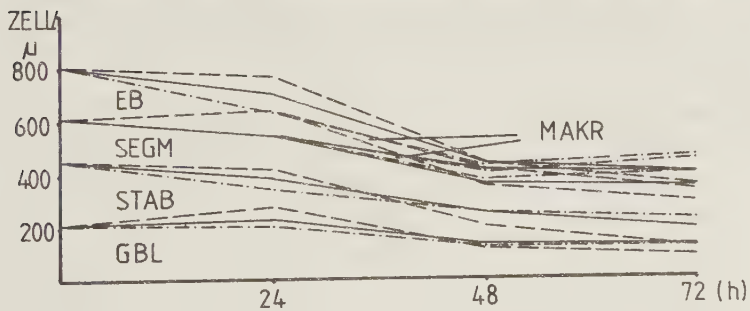
KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH. 20MG/ML			ECH. 0,2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,52	0,72	0,59	0,56	0,76	0,49	0,46	0,60	0,50	0,45
MITOSEINDEX (IN ‰)	4,3	5,3	1,8	1,9	6,2	13,2	8,6	1,8	4,0	2,3

KNOCHENMARKKULTUR NR. 1 (NEUTROPENIE)

RELATIVE ANTEILE - ROTE REIHE



ABSOLUTE ANTEILE



krophagen ab ersten Kulturtag jedoch stets vermehrt; Anteil der Erythroblasten am 2. und 3. Tag sehr gering.

Knochenmarkkultur Nr. 2

Patientin: S., I.; weibl., geb. am 29.11.18

Klinische Diagnose: Zustand nach zytostatischer Behandlung von M. Hodgkin

Beckenkammpunktat vom 18.01.82

Bewertung:

- Ausstrich: zellreich, mittlerer Fettgehalt
- Retikulum und Lymphopoese: Histiozyten vermehrt, PAS negativ, α -NA-Esterase negativ, Gewebsmastzellen vorhanden, Knochenmarklymphozyten vermehrt, POX und PAS negativ, α -NA-Esterase negativ
- Granulopoese: Blasten und Promyelozyten vermehrt, Eosinophile gering vermehrt
- Erythropoese: normoblastisch, Megaloblasten und Megaloblastoide vorhanden, Erythroblasten PAS negativ, keine Eisenspeicherung in Histiozyten
- Thrombopoese: Megarkaryozyten in allen Reifestufen vorhanden, PAS gut positiv
- Diagnose: keine Hodgkinzellen oder Sternbergschen Riesenzellen vorhanden, kein Beweis für Knochenmarkbefall durch M. Hodgkin; Knochenmarklymphozyten und Blasten allerdings auffällig vermehrt

Blutbild vom 18.01.82

Hb	15,4 g/dl	Segm	92
Hk	44,3 Vol-%	Eos	1
Ery	4,95 Mill/ μ l	Mono	1
MCH	31,2 pg	Ly	6
MCV	90 nl		
MCHC	34,8 g/dl		
Leuko	4.700/ μ l		
Thrombo	226.000/ μ l		

Medikamente zum Zeitpunkt der Beckenkampunktion:
keine

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 28/29):

- Mitoseindex: durchweg erhöht
- teilungsfähige Granuloblasten: für zwei Kulturtage stärkere Ausreifung bei allen Zellklassen, am 3. Tag Annäherung an Kontrollwerte
- Stabkernige: wechselhaft vermehrt oder vermindert
- Segmentkernige: geringe Unterschiede
- Reifungsindex: liegt über den Kontrollwerten mit Ausnahme des 3. Tages
- Makrophagen: am 1. (und am 3.) Kulturtag vermehrt
- Lymphozyten: am 1. Tag stark verringert, danach Übereinstimmungen
- Erythropoese: sehr ähnlicher Kurvenverlauf, Anteil der Proerythroblasten und basophiler Erythroblasten vorübergehend geringer
- absolute Auftragung: Granuloblasten ohne einheitliche Tendenz bei niedrigeren Endergebnissen, insbesondere bei der niedrigeren Konzentration letztlich starke Abnahme; Stabkernige meist vermindert, jedoch zugunsten der Segmentkernigen nur bei der höheren Konzentration; frühes Auftreten der Makrophagen; ähnlich starke Abnahme der Erythroblasten

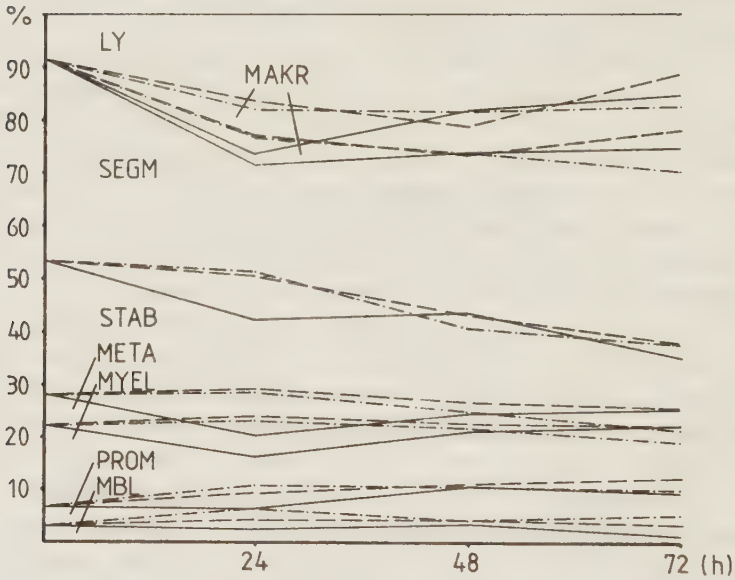
KNOCHENMARKKULTUR NR. 2 (M. HODGKIN)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

KONTROLLE

ECHINACIN 2,0MG/ML

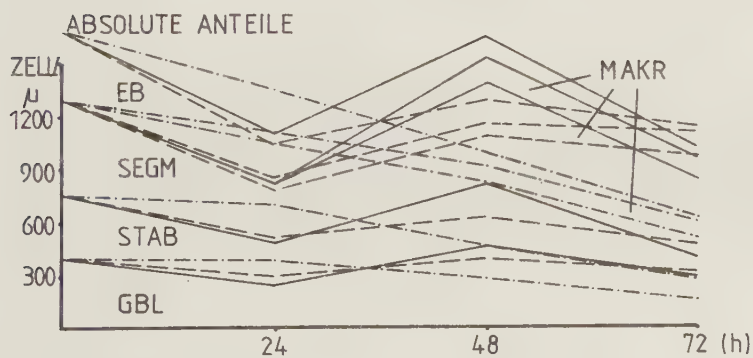
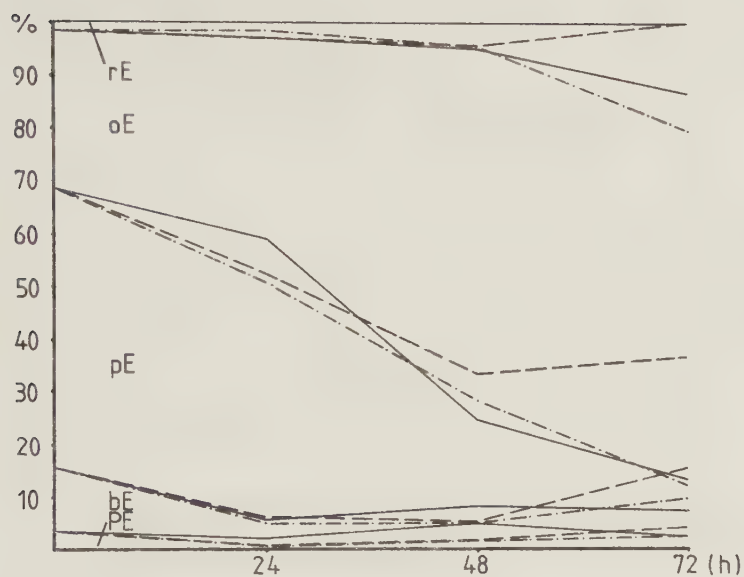
ECHINACIN 0,2MG/ML



KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH.2,0MG/ML			ECH.0,2MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,44	0,39	0,49	0,50	0,60	0,57	0,48	0,59	0,51	0,43
MITOSEINDEX (IN ‰)	4,5	12,0	6,5	2,1	16,3	12,2	8,2	16,4	10,7	4,8

KNOCHENMARKKULTUR NR.2 (M.HODGKIN)

RELATIVE ANTEILE-ROTE REIHE



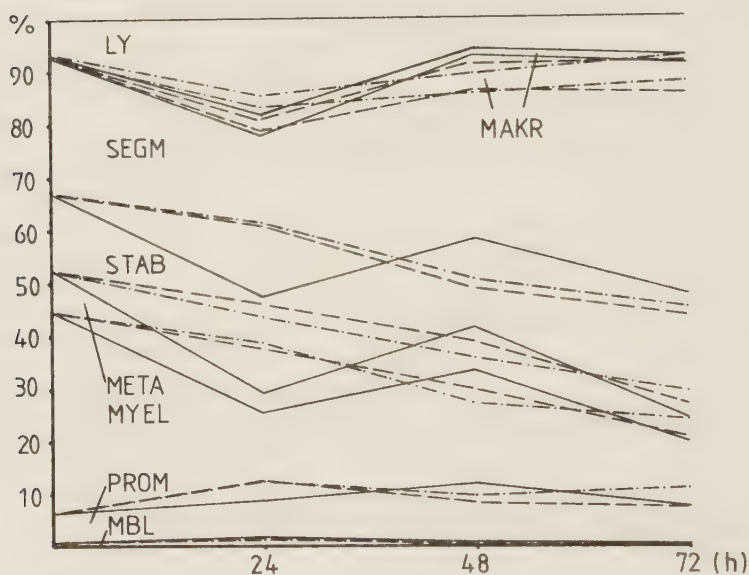
KNOCHENMARKKULTUR NR. 3 (ANÄMIE)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

KONTROLLE

ECHINACIN 2,0MG/ML

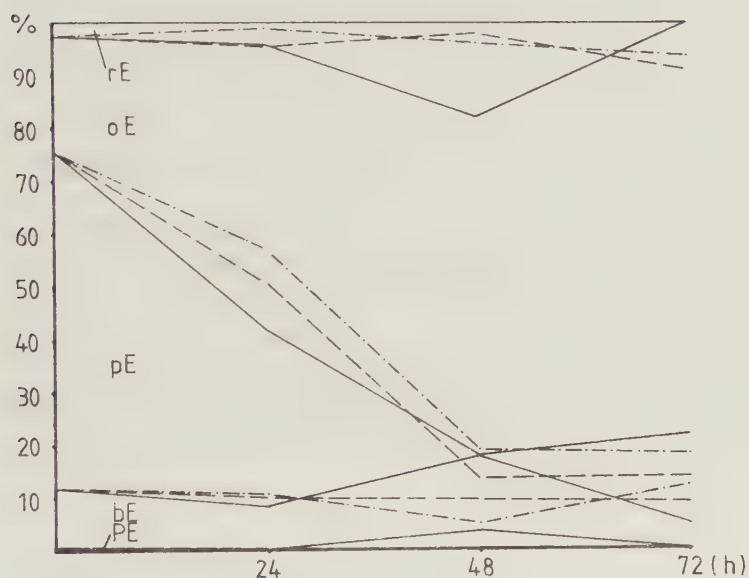
ECHINACIN 0,2MG/ML



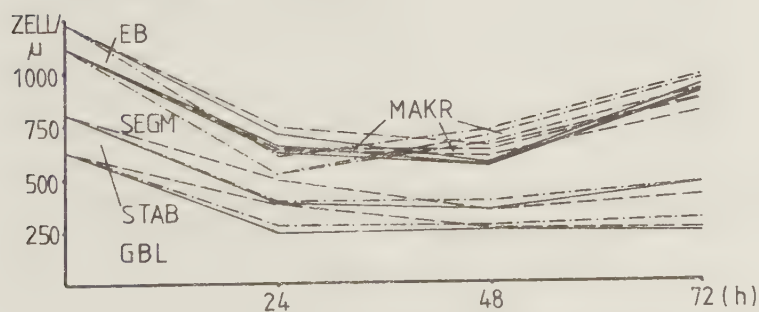
KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH. 2,0MG/ML			ECH. 0,2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	1,30	0,59	0,80	0,36	1,40	0,81	0,45	1,10	0,70	0,49
MITOSEINDEX (IN ‰)	2,0	1,8	6,1	6,3	7,3	13,2	16,9	10,3	13,1	12,2

KNOCHENMARKKULTUR NR.3 (ANÄMIE)

RELATIVE ANTEILE - ROTE REIHE



ABSOLUTE ANTEILE



Knochenmarkkultur Nr. 3

Patientin: W., H.; weibl., geb. am 04.01.02

Klinische Diagnose: unklare Anämie, primär-chronische Polyarthrit, dekompensierte Herzinsuffizienz, Cholezystolithiasis

Sternalpunktat vom 09.02.82

Bewertung:

- Ausstrich: mittlere Zelldichte, mittlerer Fettgehalt
- Retikulum und Lymphopoese: Histiozyten normal, Plasmazellen vermehrt
- Granulopoese: normal, nicht verschoben, POX und PAS gut positiv, Eosinophile vermehrt, Monopoese normal
- Erythropoese: wenig vermindert, nicht verschoben, normoblastisch, keine Megaloblastoide, Erythroblasten PAS-negativ, keine Eisenspeicherung in Histiozyten
- Thrombopoese: Megakaryozyten in allen Reifestufen vorhanden
- Diagnose: bei fehlender Eisenspeicherung und Hypochromasie Hinweis auf Eisenmangelanämie

Blutbild vom 09.02.82

Hb	7,9 g/dl	Segm	71
Hk	24,2 Vol-%	Eos	4
Ery	3,31 Mill/ μ l	Mono	4
MCH	23,7 pg	Ly	21
MCV	73 nl		
MCHC	32,6 g/dl		
Leuko	7400/ μ l		

Medikamente zum Zeitpunkt der Sternalpunktion:

täglich: 1 x 1 Lanicor (Digoxin)

3 x 2,0 g Gramaxin (Cefazolin) i.v.

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 30/31):

- Mitoseindex: deutlich erhöht über alle drei Kulturtage
- teilungsfähige Granuloblasten: stetige Abnahme zuungunsten der Myelozyten bei etwa ähnlichen Endergebnissen, am 1. Tag

größerer Anteil der Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten

- Stabkernige: durchweg geringerer Anteil, besonders am 3. Tag
- Segmentkernige: nach Abfall ihrer Anzahl am 1. Tag den Kontrollergebnissen ähnlich
- Reifungsindex: bis auf den 2. Tag schwächere Ausreifung
- Makrophagen: Anteil vom 2. Tag an stark erhöht
- Lymphozyten: am 2. und 3. Kulturtag bei der stärkeren Konzentration etwas vermehrt
- Erythropoese: zunächst fast identischer Kurvenverlauf, ab 2. Tag geringerer Anteil der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten zugunsten der polychromatischen und oxyphilen
- absolute Auftragung: Blasten etwas vermehrt, Stabkernige vermindert: Segmentkernige am 1. Tag noch weniger, danach stärkere Ausreifung bei gering erhöhten Endergebnissen; Makrophagen linear vermehrt

Knochenmarkkultur Nr. 4

Patientin: M., E., weibl., geb. am 01.04.13

Klinische Diagnose: Leukozytose

Sternalpunktat vom 17.02.82

Bewertung:

- Ausstrich: zellreich
- Retikulum und Lymphopoese: normal, Plasmazellen etwas vermehrt
- Granulopoese: etwas vermehrt, rechtsverschoben, POX und PAS gut positiv, Eosinophile vermehrt, Monozyten normal, α -NA-Esterase positiv
- Erythropoese: etwas vermehrt, rechtsverschoben, normoblastisch, kaum Eisenspeicherung in Histiozyten
- Thrombopoese: Megakaryozyten in allen Reifestufen vorhanden
- Diagnose: evtl. chronischer Infekt bei Vermehrung der Eosinophilen und Plasmazellen

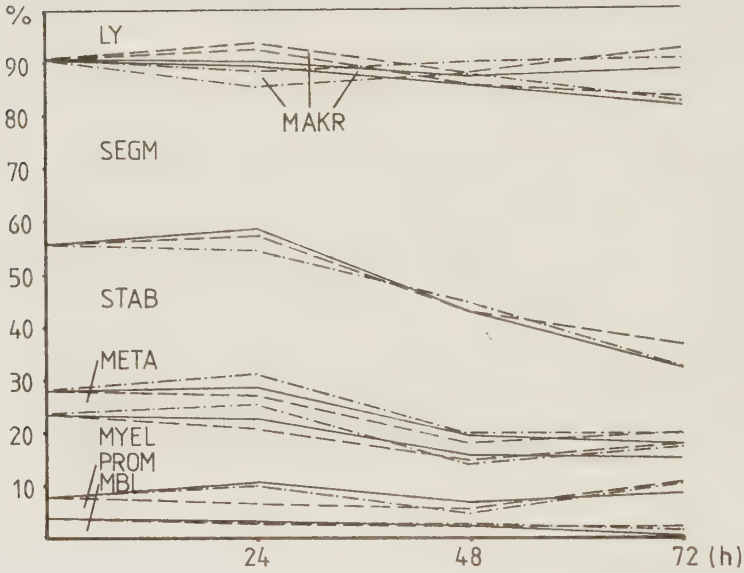
KNOCHENMARKKULTUR NR.4 (LEUKOZYTÖSE)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

KONTROLLE

ECHINACIN 2,0 MG/ML

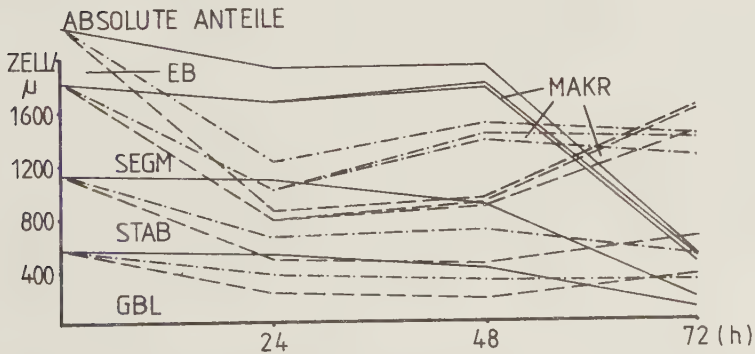
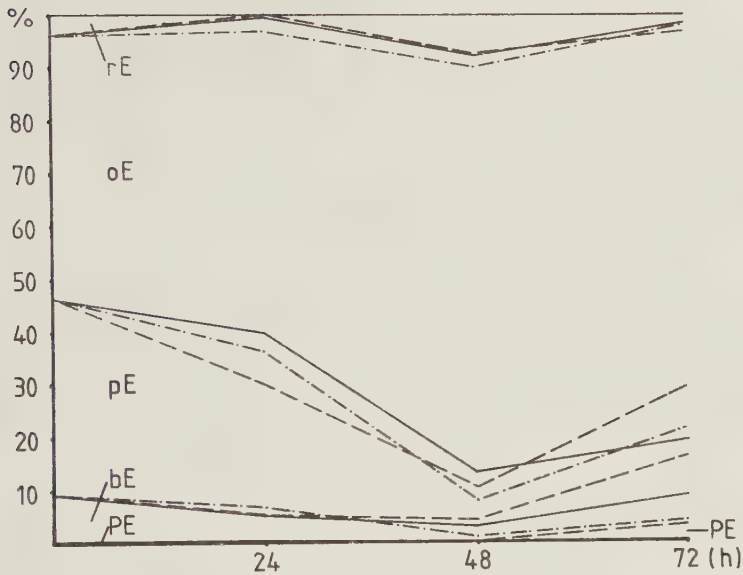
ECHINACIN 0,2 MG/ML



KULTURSTD.	ORG	KONTROLLE			ECH.2,0 MG/ML			ECH.0,2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,44	0,46	0,29	0,28	0,41	0,26	0,31	0,57	0,29	0,31
MITOSEINDEX (IN ‰)	4,3	7,9	5,4	8,7	7,9	14,7	15,2	14,8	16,0	10,3

KNOCHENMARKKULTUR NR.4 (LEUKOZYTÖSE)

RELATIVE ANTEILE - ROTE REIHE



Blutbild vom 17.02.82

HB	14,6 g/dl	Segm	66
Hk	41,3 Vol-%	Eos	4
Ery	4,84 Mill/ μ l	Bas	1
MCH	30,2 pg	Mono	3
MCV	86 nl	Ly	26
MCHC	35,5 g/dl	(davon 6 atypisch)	
Leuko	13200/ μ l		
Thrombo	245000/ μ l		

Medikamente zum Zeitpunkt der Sternaipunktion:

täglich 1 x 1 Tri-Thiazid Stada

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 34/35):

- Mitoseindex: deutlich erhöht über alle 3 Kulturtage
- teilungsfähige Granuloblasten: fast identischer Kurvenverlauf bei erhöhtem Myelozytenanteil
- Stabkernige: vermehrt bei der höheren Konzentration
- Segmentkernige: bis auf den 3. Tag nur bei der höheren Konzentration eindeutige Vermehrung
- Reifungsindex: bis auf den 1. Tag kaum Unterschiede
- Makrophagen: durchweg vermehrt
- Lymphozyten: sprunghaft, meist jedoch vermindert
- Erythropoese: geringfügige Differenzen im gesamten Kurvenverlauf
- absolute Auftragung: am 1. und 2. Kulturtag stärkere Abnahme der Gesamtzellzahl mit Wirkung auf alle Zelltypen, ausgenommen der Makrophagen; am 3. Kulturtag jedoch eine Zellvermehrung bei allen Zelltypen mit Ausnahme der Erythroblasten

Blutkultur Nr. 1

Patientin: S., U.; weibl., geb. am 21.07.26

Klinische Diagnose: chronisch-myeloische Leukämie (CML)

Beckenkammpunktat vom 25.08.81

Beurteilung:

- Ausstrich: zellreich, fettarm
- Retikulum und Lymphopoese: Histiozyten vermindert, Knochenmarklymphozyten vermindert, Blutlymphozyten vermindert, Plasmazellen vermindert
- Granulopoese: vermehrt, links verschoben, vorwiegend Pro-myelozyten, Myelozyten, POX gut positiv, Eosinophile vermehrt
- Erythropoese: vermindert, mäßig verschoben, normoblastisch, kaum Eisenspeicherung in Histiozyten
- Thrombopoese: Megakaryoblasten vorhanden, Megakaryozyten in allen Reifungsstufen reichlich, Mikrokaryozyten reichlich, PAS gut positiv
- Diagnose: typischer Befund einer CML mit mäßiger Verminderung der Erythropoese

Blutbild vom 18.08.81

Hb	12,3 g/dl	Mbl	5
Hk	39,3 Vol-%	Prom	7
Ery	3,93 Mill/ μ l	Myel	13
MCH	31,5 pg	Meta	10
Leuko	99500/ μ l	Stab	24
Thrombo	537000/ μ l	Segm	29
		Eos	3
		Bas	2
		Mono	2
		Ly	5
		Anisozytose +	
		Polychromasie ++	

Medikamente zum Zeitpunkt der Blutentnahme:

keine; 5 Monate vorher zum letzten Mal Myleran (Busulfan)

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 38):

- Mitoseindex: bis auf den 3. Tag geringer
- teilungsfähige Granuloblasten: Zunahme, insbesondere der Myeloblastenzahl bis zum 2. Kulturtag, danach stärkerer Ab-

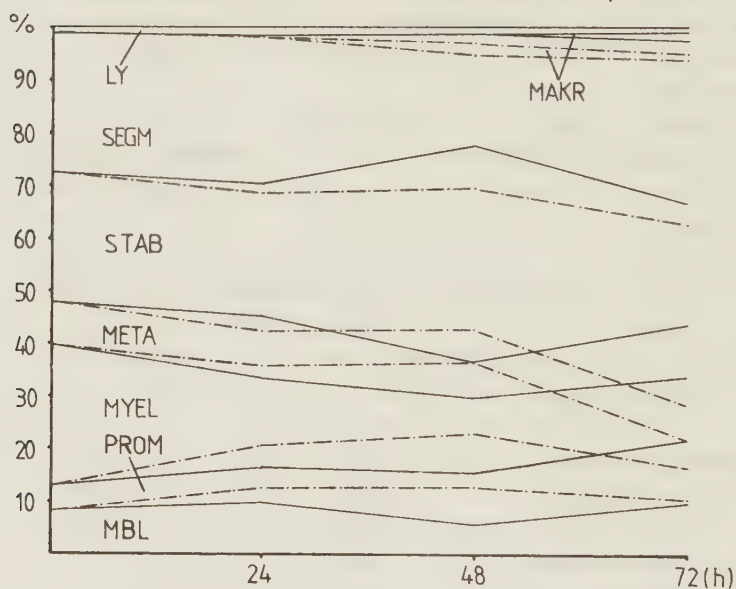
BLUTKULTUR NR.1 (CML)

RELATIVE ANTEILE-WEISSE REIHE

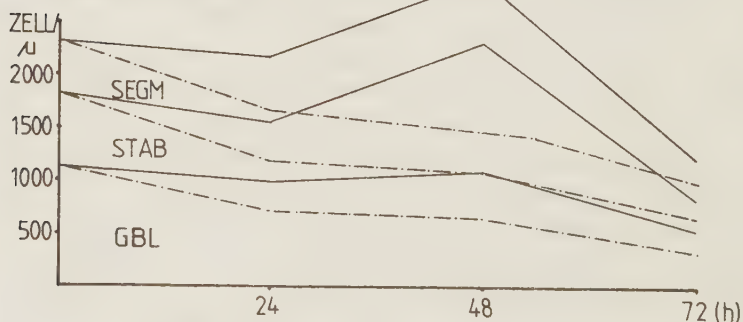
KONTROLLE

(ECHINACIN 2,0 MG/ML

ECHINACIN 0,2 MG/ML



ABSOLUTE ANTEILE



KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH. 2,0MG/ML			ECH. 0,2MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,94	0,85	0,58	0,81	—	—	—	0,76	0,81	0,42
MITOSEINDEX (IN‰)	16,7	13,3	10,9	4,5	—	—	—	9,4	4,6	7,0

fall

- Stabkernige: am 2. Tag auffallend weniger, am 3. Tag aber starke Vermehrung
- Segmentkernige: über 2 Tage eindeutig vermehrt, doch ähnliche Endergebnisse
- Reifungsindex: stärkere Ausreifung erst am 3. Tag (in der Kontrolle vorübergehend am 2. Tag)
- Lymphozyten: stets vermehrt
- absolute Auftragung: Zellen insgesamt weniger, besonders am 2. Tag (Bestimmungsfehler?), am 3. Tag Ausgleich bei vermindertem Blastenanteil

Blutkultur Nr. 2

Patient: M., M.; männl., geb. am 28.03.59

Klinische Diagnose: chronisch-myeloische Leukämie (CML)

Sternalpunktat vom 22.09.81

Beurteilung:

- Ausstrich: sehr zellreich, fettfrei
- Retikulum und Lymphopoese: reichlich phagozytierende Histiozyten
- Granulopoese: vermehrt, nicht verschoben, reichlich Mitosen, POX und PAS gut positiv, Eosinophile gering vermehrt, Monoblasten und Promonozyten vermehrt
- Erythropoese: wenig vermindert, linksverschoben, reichlich Mitosen, normoblastisch, reichlich Megaloblastoide
- Thrombopoese: Megakaryozyten in allen Reifestufen, Mikrokaryozyten
- Diagnose: CML mit erhöhtem Monozytenanteil

Blutbild vom 16.09.81

Hb	12,4 g/dl	Mbl	3
Hk	41,2 Vol-%	Prom	6
Ery	3,69 Mill/ μ l	Myel	11
MCH	33,8 pg	Meta	5
MCV	113 nl	Stab	40

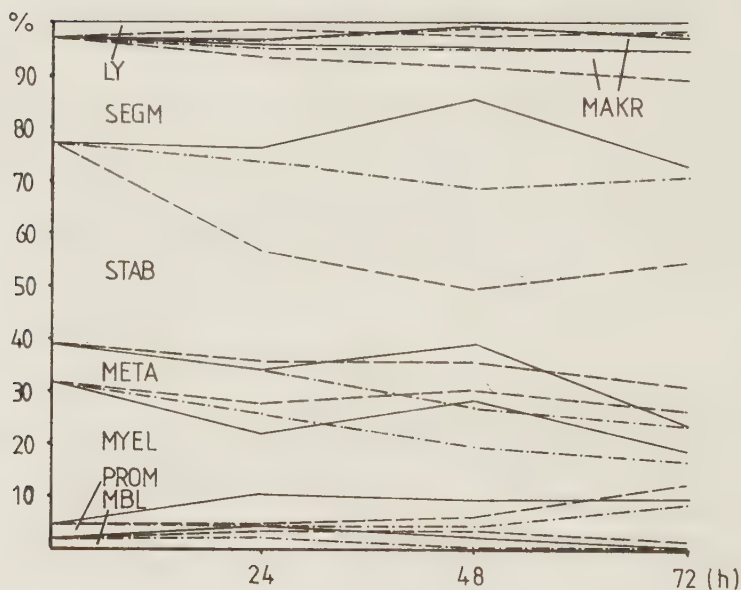
4.0

BLUTKULTUR NR. 2 (CML)

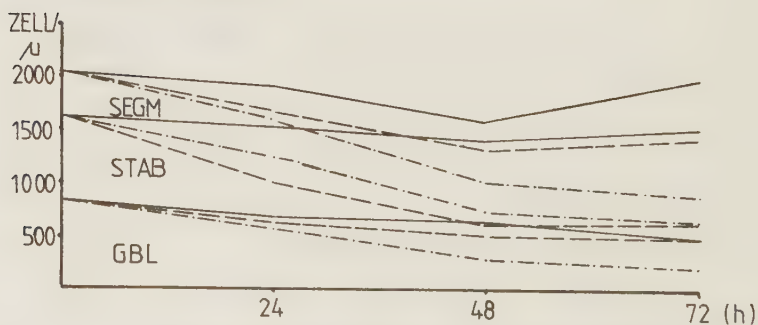
RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

KONTROLLE
ECHINACIN 2,0 MG/ML
ECHINACIN 0,2 MG/ML

—
- - -
- · -



ABSOLUTE ANTEILE



KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH. 2,0 MG/ML			ECH. 0,2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,66	0,55	0,69	0,33	0,61	0,63	0,53	0,55	0,39	0,33
MITOSEINDEX (IN ‰)	10,4	11,7	5,1	8,4	11,2	11,2	0	0	7,4	0

MCHC	30,0 g/dl	Segm	28
Retikulo	37000/ μ l	Eos	1
Leuko	165000/ μ l	Mono	1
Thrombo	277000/ μ l	Ly	3
		Ebl	2

Medikamente zum Zeitpunkt der Blutentnahme:
keine

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 40):

- Mitoseindex: insgesamt geringer als in der Kontrolle; am 2. Tag etwas höher und am 3. Tag auf Null abgefallen
- teilungsfähige Granuloblasten: Myeloblasten- und Promyelozytenanteil bis auf den 3. Tag (2. Tag) vermindert zugunsten der Myelozyten
- Stabkernige und Segmentkernige: starke Abnahme der Stabkernigenzahl zugunsten der Segmentkernigen bis zum 3. Tag (2. Tag) bei weitgehend gleich großen Gesamtanteilen
- Reifungsindex: nur bei der geringeren Echinacinkonzentration lineare Ausreifung mit gleichem Endwert
- Makrophagen: starke Vermehrung bei der höheren Konzentration
- absolute Auftragung: insgesamt stärkere Zelldepression

Blutkultur Nr. 3

Patient: W., H.; männl., geb. am 08.09.31

Klinische Diagnose: chronisch-myeloische Leukämie (CML), arterieller Hypertonus, primär-chronische Polyarthrit, Hyperurikämie, Hyperlipoproteinämie Typ IV

Sternalpunktat vom 03.11.81

Beurteilung:

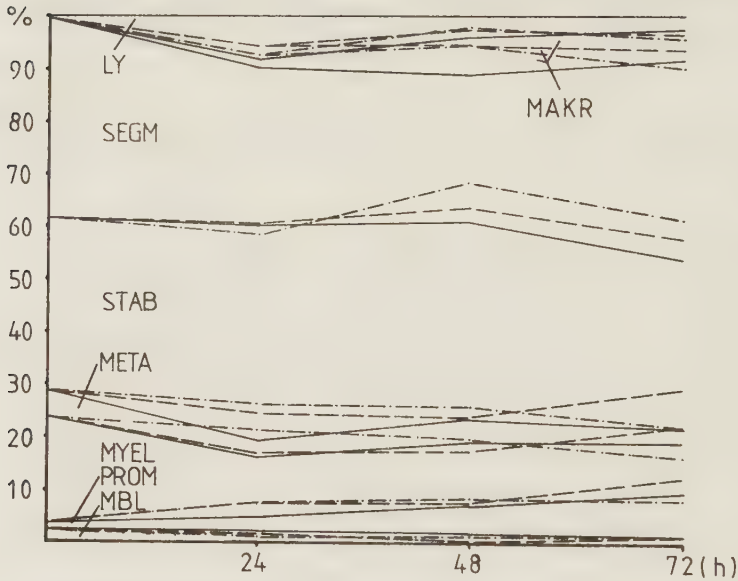
- Ausstrich: zellreich
- Retikulum und Lymphopoese: Histiozyten bis auf granulierten stark vermindert, α -NA-Esterase positiv, Plasmazellen stark vermindert

BLUTKULTUR NR. 3 (CML)

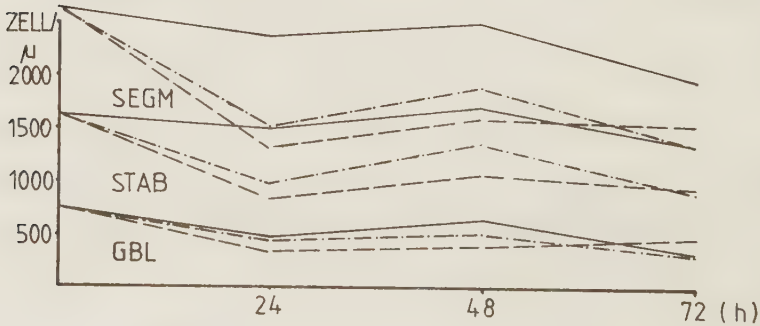
KONTROLLE

ECHINACIN 2,0 MG/ML

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE ECHINACIN 0,2 MG/ML



ABSOLUTE ANTEILE



KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH. 2,0 MG/ML			ECH. 0,2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS-INDEX	0,40	0,25	0,35	0,31	0,35	0,34	0,45	0,39	0,38	0,33
MITOSEINDEX (IN ‰)	0	0	0	18,1	8,3	0	6,8	22,7	0	0

- Granulopoese: vermehrt, nicht verschoben, POX und PAS gut positiv, Monozyten normal, Eosinophile vermehrt
- Erythropoese: stark vermindert, normoblastisch, keine Hämozytoblasten
- Thrombopoese: Megakaryoblasten vorhanden, Megakaryozyten in allen Reifestufen vorhanden, Mikrokaryozyten, PAS gut positiv
- Diagnose: typisches Bild einer CML

Blutbild vom 03.11.81

Hb	17,0 g/dl	Prom	11
Hk	58,3 Vol-%	Myel	8
Ery	5,34 Mill/ μ l	Meta	7
MCH	30,6 pg	Stab	24
Leuko	145.000/ μ l	Segm	38
Thrombo	293000/ μ l	Eos	4
		Bas	1
		Mono	3
		Ly	4

Medikamente zum Zeitpunkt der Blutentnahme:

- täglich 1 x 1 Beloc (Metoprolol)
- 3 x 1 Cedur (Bezafibrat)
- 2 x 1 Voltaren retard (Diclofenac)
- 1 x 1 Allopurinol 300 mg

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 42):

- Mitoseindex: sprunghaft
- teilungsfähige Granuloblasten: etwas stärkerer Anteil der Promyelozyten und Metamyelozyten, insgesamt wenig Unterschiede
- Stabkernige: mit der geringeren Konzentration etwas vermehrt
- Segmentkernige: ähnlicher Kurvenverlauf
- Reifungsindex: geringfügige Unterschiede
- Makrophagen: etwas vermindert
- Lymphozyten: am 1. Tag bei der geringeren Konzentration etw

was vermehrt

- absolute Auftragung: über 2 Kulturtage stärkere Degeneration der Zellen bei sehr ähnlichen Endergebnissen

Blutkultur Nr. 4

Patient: W., G.; männl., geb. am 08.04.11

Klinische Diagnose: polyzythämisches Vorstadium einer Osteomyelosklerose (OMS), Leberzirrhose

Beckenkammpunktat vom 03.10.79 ergibt sehr wenig Material, daher Bewertung mit Vorbehalt:

- Ausstrich: Fettgewebe fast vollständig verschwunden, stellenweise Bindegewebsproliferation
- Granulopoese: massiv vermehrt
- Erythropoese: unterdrückt
- Thrombopoese: massive Vermehrung von bizarr geformten Megakaryoblasten und -zyten
- Diagnose: zellarmes Vorstadium der OMS

Blutbild vom 01.10.79:

Hb	18,0 g/dl	Myel	1
Hk	56,2 Vol-%	Meta	2
Ery	18,0 Mill/ μ l	Stab	11
MCH	28,8 pg	Segm	62
MCV	89 nl	Eos	4
MCHC	31,9 g/dl	Mono	15
Leuko	27300/ μ l	Ly	4
Thrombo	301000/ μ l	AMZ	1

Medikamente zum Zeitpunkt der Blutentnahme:

täglich 2 x 1 Lanicor (Digoxin)

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 45):

- Mitoseindex: bis auf den 1. Tag bei der schwächeren Konzentration geringer
- teilungsfähige Granuloblasten: insgesamt starker Abfall am

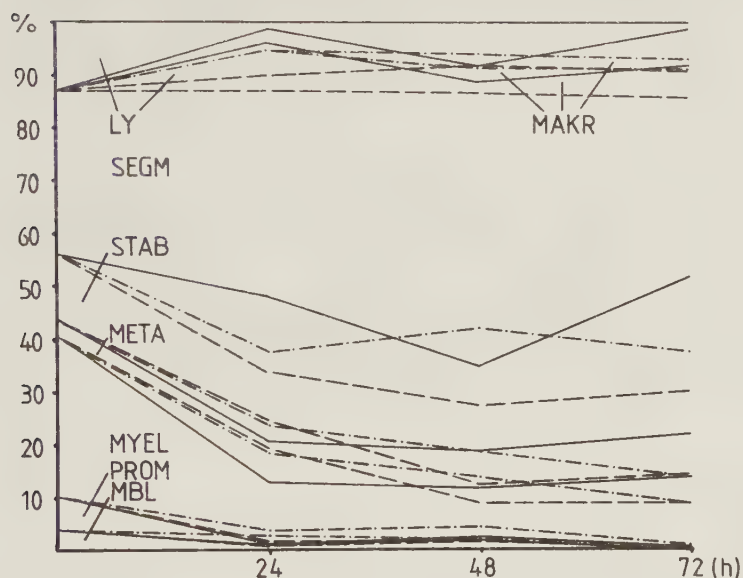
BLUTKULTUR NR.4 (OMS)

KONTROLLE

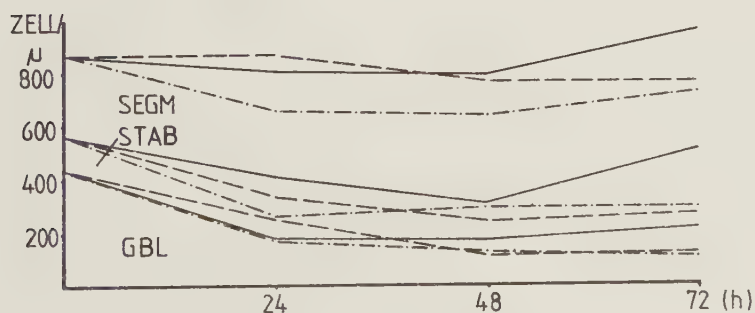
ECHINACIN 2,0MG/ML

ECHINACIN 0,2MG/ML

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE



ABSOLUTE ANTEILE



KULTURSTD.	ORG.	KONTROLLE			ECH. 2,0MG/ML			ECH. 0,2MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	1,01	0,26	0,27	0,29	0,39	0,16	0,19	0,33	0,25	0,17
MITOSEINDEX (IN ‰)	0	0	21,2	9,0	0	0	0	8,4	0	0

1. Kulturtag (einschließlich Kontrolle), danach sehr viel stärkere Ausdifferenzierung der Myelozyten und Metamyelozyten; Promyelozyten am 2. Tag bei der geringeren Konzentration vermehrt

- Stabkernige: fast durchweg geringerer Anteil zugunsten der
- Segmentkernigen: Gesamtzahl der reifen Granulozyten aber weitgehend identisch
- Reifungsindex: stärkere Ausreifung am 2. und 3. Tag
- Makrophagen: bei der höheren Konzentration vermehrt, bei der niedrigeren verringert
- Lymphozyten: Zunahme
- absolute Auftragung: bei etwas verminderter Zellzahl Verschiebung zugunsten der Segmentkernigen (bei der höheren Konzentration)

Blutkultur Nr. 5

Patient: M., G.; männl., geb. am 24.03.18

Klinische Diagnose: akute Monoblastenleukämie, Herzinfarkt, Adipositas, Carotisstenose links

Sternalpunktat vom 17.11.81

Bewertung:

- Ausstrich: zellreich, fettarm
- Granulopoese: vermehrt, linksverschoben, vorwiegend Myeloblasten und Promyelozyten, POX und PAS gut positiv, Monoblasten vermehrt
- Erythropoese: stark vermindert, normoblastisch, vereinzelt Megaloblastoide
- Thrombopoese: Megakaryozyten in allen Reifestufen vorhanden
- Diagnose: Vollbild einer akuten Leukämie mit unterschiedlich großen Blasten (POX: 80% positiv, PAS negativ, α -NA-Esterase positiv)

Blutbild vom 16.11.81

Hb	8,7 g/dl	Stab	3
Hk	28,2 Vol-%	Segm	21

Ery	2,95 Mill/ μ l	Mono	19
MCH	28,4 pg	AMZ (Blasten)	57
MCV	94 nl	Anisozytose +	
MCHC	30,1 g/dl	Polychromasie +	
Leuko	6900/ μ l		
Thrombo	26000/ μ l		

Medikamente zum Zeitpunkt der Blutentnahme:

täglich 2 x 1 Ce-Ferro-Forte
2 x 1 Corvaton (Molsidomin)
1 x 1 Novodigal (Digoxin)
1 x 1 Predni-H 100 mg (Prednisolonazetat)
alle 3 Tage 1 Lasix (Furosemid)

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 47):

- Mitoseindex: keine Mitosen beobachtet
- teilungsfähige Granuloblasten: sehr stark vermindert, besonders bei der geringeren Konzentration
- Stabkernige und Segmentkernige: starke Zunahme auf das Mehrfache der Kontrollergebnisse, weniger stark bei der geringeren Konzentration
- Reifungsindex: eindeutig beschleunigte Ausreifung, insbesondere bei der stärkeren Konzentration
- Makrophagen: sprunghaft
- Lymphozyten: am 1. Kulturtag Zunahme, danach nur geringe Unterschiede zur Kontrolle
- absolute Auftragung: am 1. Tag schnellerer Zelluntergang, am 2. Tag stationär, anschließend stärkere Ausdifferenzierung der Granulozyten bei geringerem Blastenanteil

Blutkultur Nr. 6

Patient: D., A.; männl., geb. am 23.08.04

Klinische Diagnose: smouldering leukemia, zerebrale Blutung
Sternalpunktat vom 13.10.81

Bewertung:

- Ausstrich: zellreich, fettarm

- Granulopoese: Myeloblastenanteil über 50%, reife Granulozyten vorhanden, POX überwiegend positiv, PAS zum Teil feingranulär positiv, α -NA-Esterase vereinzelt diffus positiv
- Erythropoese: stark reduziert
- Thrombopoese: stark reduziert
- Diagnose: Bild einer akut-myeloischen Leukämie (AML), nach Klinik smouldering leukemia

Blutbild vom 12.10.81

Hb	10,3 g/dl	Mbl	4
Hk	31,8 Vol-%	Myel	5
Ery	3,68 Mill/ μ l	Meta	6
MCH	27,0 pg	Stab	13
Leuko	11500/ μ l	Segm	31
Thrombo	22000/ μ l	Bas	1
		Mono	7
		Ly	33
		Anisozytose	+

Medikamente zum Zeitpunkt der Blutentnahme:

täglich 1 x 1 Novodigal (Digoxin)

Prednison 10 mg

Kurzbeschreibung des Kulturergebnisses (Tab. S. 50):

- Mitoseindex: bei der geringeren Konzentration etwas höher
- teilungsfähige Granuloblasten: bis zum 2. Tag stärkere Differenzierung der Myeloblasten bei gleichzeitiger Zunahme der Promyelozytenzahl
- Stabkernige: nur bei der geringeren Konzentration Zunahme an allen 3 Kulturtagen
- Segmentkernige: umgekehrt starke Zunahme bei der höheren Konzentration
- Reifungsindex: nur über die ersten zwei Kulturtage rasche Ausreifung
- Makrophagen: insgesamt vermehrt

5.0

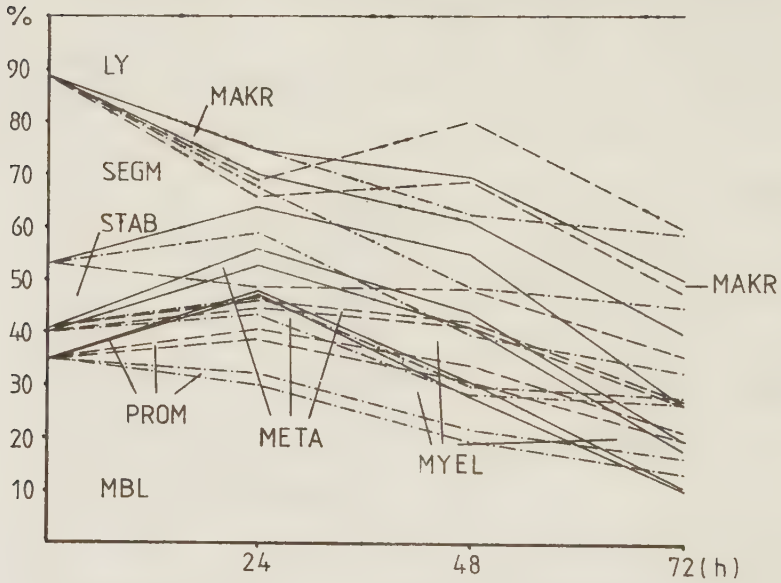
BLUTKULTUR NR.6 (AML)

KONTROLLE

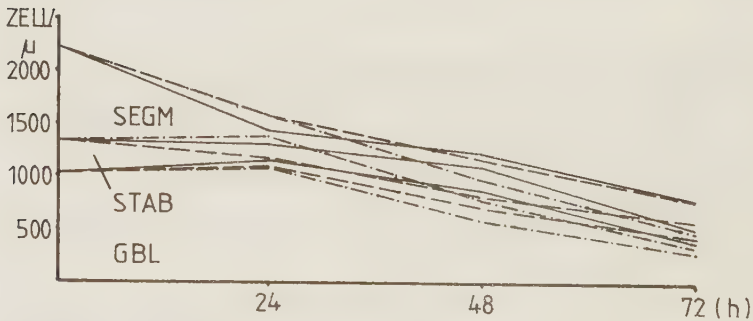
ECHINACIN 2,0MG/ML

ECHINACIN 0,2MG/ML

RELATIVE ANTEILE -WEISSE REIHE



ABSOLUTE ANTEILE



KULTURSTD.	ORG	KONTROLLE			ECH. 2,0MG/ML			ECH. 0,2MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,84	3,98	2,54	0,98	2,36	1,57	1,34	2,20	1,58	1,63
MITOSEINDEX (IN‰)	0	0	4,5	0	0	0	0	0	6,7	7,1

- Lymphozyten: zunächst ähnlicher Kurvenverlauf, am 3. Tag dann eindeutig weniger
- absolute Auftragung: bei der höheren Konzentration sofortige Zunahme der reifen Granulozyten mit Ausnahme des 3. Kulturtages; bei der geringeren Konzentration dagegen Vermehrung der Stabkernigen; Endergebnis am 3. Tag ähnlich

4. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

1. Knochenmarkkulturen bei zytologisch unverändertem Knochenmark (n=4)

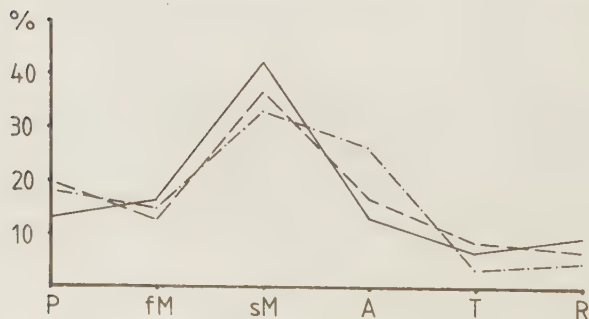
a) Zugabe von 2,0 mg Echinacin pro ml Kultursuspension

Der Mitoseindex ist ab dem zweiten Kulturtag deutlich erhöht. Es finden hochsignifikant mehr Mitosen statt als in den Kontrollversuchen ($p=0,995$ bzw. $0,99$). Die Überprüfung, ob innerhalb des normalen Mitoseverlaufes Beschleunigungen oder Verzögerungen stattfinden, ausgedrückt durch das gehäufte Vorkommen einer oder mehrerer spezieller Mitosephasen, wird mit Hilfe der karyologischen Kurve vorgenommen. Der erhöhte Anteil von Prophasen (19,4% gegenüber 12,9% in der Kontrolle) und Anaphasen (16,6% gegenüber 12,9%) verrät eine etwas längere Verweildauer in diesen Mitoseabschnitten, wohingegen die frühe und insbesondere die späte Metaphase etwas schneller durchlaufen werden (12,5% gegenüber 16,9% bzw. 36,1% gegenüber 41,9%). Telophase und Rekonstruktionsphase ähneln sich weitgehend; eine genauere Interpretation ist durch die geringe Fallzahl ausgeschlossen.

KARYOLOGISCHE KURVE DER KNOCHENMARKKULTUREN (n=4)

P = PROPHASE
fM = FRÜHE METAPHASE
sM = SPÄTE METAPHASE
A = ANAPHASE
T = TELOPHASE
R = REKONSTRUKTIONSPHASE

KONTROLLE —————
ECHINACIN 2,0 MG/ML - - - - -
ECHINACIN 0,2 MG/ML ······



Die teilungsfähigen Granuloblasten folgen dem schon oben beschriebenen Trend mit einer hochsignifikanten Vermehrung ($p=0,9995$) am ersten Kulturtag, um an den folgenden Tagen unter die Zahlen der Kontrollversuche abzufallen.

Hochsignifikant vermindert sind auch hier die Stabkernigen ($p=0,9995$) konstant über alle drei Tage, ebenso die Segmentkernigen am ersten Tag, die allerdings anschließend eindeutig gegenüber den Kontrollversuchen vermehrt sind ($p=0,9995$ bzw. $0,95$). Der erhöhte Granuloblastenanteil sowie ein beschleunigter Zelluntergang der reifen Polymorphkernigen am ersten Tag spiegelt sich wider im Reifungsindex, während später das Verhältnis von Granuloblasten zu -zyten annähernd gleich ist. Innerhalb eines gleich großen Kompartimentes von reifen Zellen findet also eine beschleunigte Differenzierung vom Stabkernigen zum Segmentkernigen statt.

Die Anzahl der Makrophagen liegt linear steigend deutlich über den Kontrollwerten ($p=0,9$; $0,99$; $0,9995$) und bestätigt ebenfalls die oben aufgezeigte Tendenz.

Bezüglich der Erythroblasten ergeben sich für den ersten Kulturtag kaum Unterschiede, während am zweiten und dritten Tag der Anteil der basophilen und polychromatischen Erythroblasten zuungunsten der oxyphilen erhöht ist. (Die Ergebnisse des zweiten und dritten Tages sind allerdings vorsichtig zu bewerten, da der Differentialzählung oftmals weniger als 100 Zellen der roten Reihe zugrunde liegen, bedingt durch die starke Verschiebung zugunsten der weißen Reihe bei zunehmendem Alter der Kulturen.)

b) Zugabe von $0,2$ mg Echinacin pro ml Kultursuspension

Auch hier liegt der Mitoseindex deutlich über dem der Kontrolle, obwohl nur am zweiten Tag signifikant ($p=0,95$) mehr Mitosen stattfinden.

Die Ergebnisse der karyologischen Kurve bestätigen in der Tendenz diejenigen der Kulturen mit der höheren Echinacinkonzentration. Der Prophasen- und Anaphasenanteil ist vermehrt ($18,0\%$ gegenüber $12,9\%$ bzw. $26,2\%$ gegenüber $12,9\%$) auf Ko-

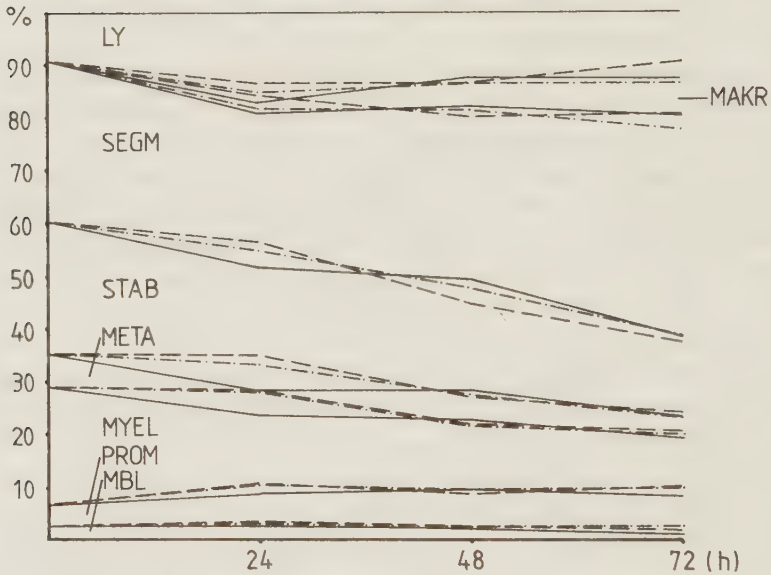
DURCHSCHNITTliche WERTE DER KNOCHENMARKKULTUREN (n=4)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

KONTROLLE

ECHINACIN 2,0 MG/ML

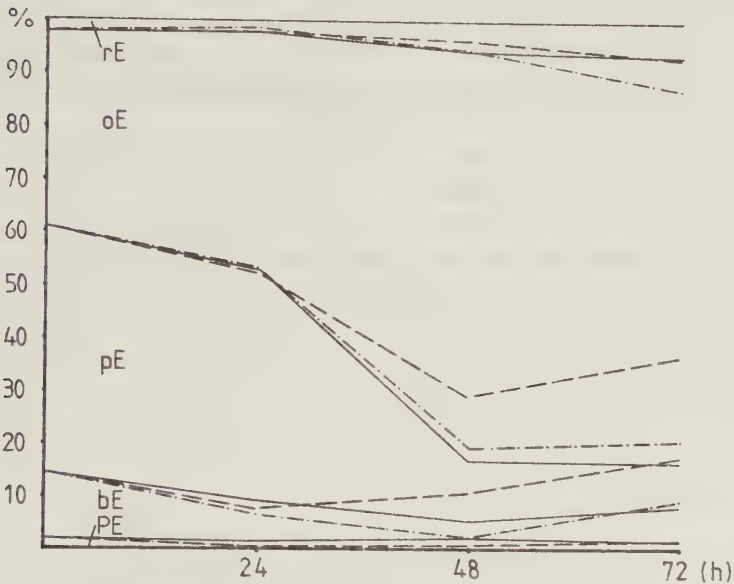
ECHINACIN 0,2 MG/ML



KULTURSTD.	ORG	KONTROLLE			ECH. 2,0 MG/ML			ECH. 0,2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,63	0,54	0,53	0,41	0,71	0,51	0,42	0,69	0,48	0,42
MITOSEINDEX (IN‰)	3,4	6,1	5,0	4,4	8,9	13,2	12,2	10,6	10,8	7,8

DURCHSCHNITTliche WERTE DER KNOCHENMARKKULTUREN (n=4)

RELATIVE ANTEILE - ROTE REIHE



sten der späten Metaphase (32,7% gegenüber 41,9%), die folgerichtig schneller durchlaufen wird, wogegen insbesondere die Zeit der Anaphase hier deutlich verlängert zu sein scheint. Die geringeren Anteile der Telo- und der Rekonstruktionsphase sind wiederum wegen der geringen Fallzahl vorsichtig zu bewerten.

Die teilungsfähigen Granuloblasten sind am ersten Kulturtag hochsignifikant vermehrt ($p=0,9995$), sind aber anschließend gegenüber der Kontrolle weniger.

Bei den Stabkernigen und Segmentkernigen sind insofern Unregelmäßigkeiten zu beobachten, als daß abweichend von den Ergebnissen der Kulturen mit der höheren Echinacinkonzentration am dritten Kulturtag die Stabkernigen signifikant vermehrt und die Segmentkernigen signifikant vermindert sind ($p=0,9$ bzw. $0,95$). Ansonsten ähneln sich die Ergebnisse;

auch hier findet am ersten Tag ein schnellerer Untergang der reifen Polymorphkernigen statt ($p=0,995$).

Der Reifungsindex zeigt ebenfalls eine Erhöhung am ersten Kulturtag, bedingt durch den hohen Blastenanteil und den beschleunigten Untergang der reifen Granulozyten, und einen weiteren stetigen Abfall an den folgenden Tagen, der dem der Kontrolle gleicht.

Die Makrophagen sind bis auf den zweiten Tag hochsignifikant vermehrt ($p=0,999$ bzw. $0,9995$).

Die Erythroblasten zeigen eine der Kontrollen gegenüber nur gering verschiedene Verteilung, wobei nur die Proerythroblasten früher verschwinden und zum Schluß die oxyphilen Erythroblasten zugunsten der reifen etwas weniger sind. (Hier gilt ebenfalls eine eingeschränkte Aussagekraft für den zweiten und dritten Kulturtag wegen zu geringer Fallzahlen.)

2. Blutkulturen bei CML (n=3)

a) Zugabe von 2,0 mg Echinacin pro ml Kultursuspension

Es ergeben sich bis auf den 3. Kulturtag keine Unterschiede bei der Berechnung des Mitoseindex. Signifikante Ergebnisse lassen sich hier nicht feststellen.

Die teilungsfähigen Granuloblasten zeigen an den ersten beiden Kulturtagen keine eindeutige Tendenz. Sie sind zunächst vermehrt ($p=0,90$), um sodann geringfügig weniger zu werden. Am 3. Tag übersteigt ihre Zahl eindeutig den Kontrollwert ($p=0,9995$).

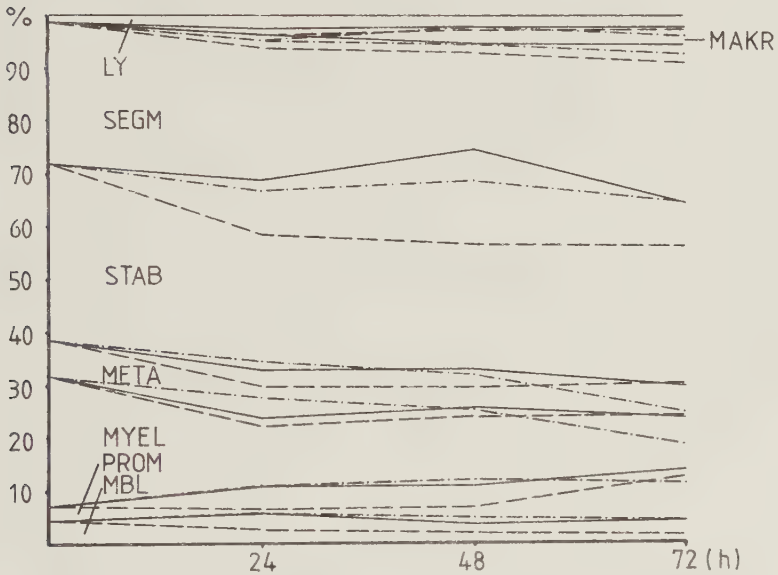
Die Stabkernigen sind an allen drei Tagen hochsignifikant weniger. Man kann eine beschleunigte Differenzierung zugunsten der Segmentkernigen feststellen, die linear stark vermehrt sind ($p=0,995$ bzw. $0,9995$).

Keine eindeutigen Unterschiede liefert der Reifungsindex. Er liegt zwar bis auf den dritten Tag unter den Kontrollwerten, zeigt jedoch keine fortschreitende Ausreifung an, so daß angenommen werden muß, daß sich die Differenzierung nur innerhalb

DURCHSCHNITTliche WERTE DER BLUTKULTUREN

BEI CML (n=3)

RELATIVE ANTEILE-WEISSE REIHE KONTROLLE
 ECHINACIN 2,0 MG/ML
 ECHINACIN 0,2 MG/ML



KULTURSTD.	ORG	KONTROLLE			ECH. 2.0 MG/ML			ECH. 0.2 MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	0,63	0,50	0,50	0,43	0,43	0,44	0,45	0,55	0,48	0,34
MITOSEINDEX (IN‰)	10,4	10,1	6,0	8,9	10,0	6,7	3,3	9,7	4,1	2,6

des Überganges vom Stabkernigen zum Segmentkernigen beschleunigt abspielt. Das Gesamtkompartiment der reifen Granulozyten bleibt dabei konstant.

Die Makrophagen sind bis auf den zweiten Tag signifikant vermehrt ($p=0,95$ bzw. $0,9$), bei linearem Anstieg von Tag zu Tag.

b) Zugabe von $0,2$ mg Echinacin pro ml Kultursuspension
Hinsichtlich des Mitoseindex finden weniger Mitosen statt als bei den Kontrollversuchen, insbesondere am dritten Tag. Wegen der geringen Fallzahlen muß dieses Ergebnis jedoch kritisch betrachtet werden. Signifikante Unterschiede ergeben sich nicht .

Die teilungsfähigen Granuloblasten entwickeln sich zunächst analog den Kulturen mit der höheren Echinacinkonzentration, um im Gegensatz zu diesen am dritten Kulturtag hochsignifikant ($p=0,995$) weniger zu werden.

Auch die Stabkernigen und Segmentkernigen verhalten sich am ersten und zweiten Tag ähnlich den Kulturen mit der höheren Echinacinkonzentration bei allerdings niedrigerem Signifikanzniveau. Am dritten Tag drehen sich die Ergebnisse um: Stabkernige hochsignifikant vermehrt ($p=0,9995$) und Segmentkernige gering vermindert.

Der Reifungsindex zeigt eine lineare Verschiebung zugunsten der reifen Granulozyten. Dieses ist am dritten Tag insbesondere auf den hohen Anteil von Stabkernigen zurückzuführen. Er ist am ersten Kulturtag höher als der Kontrollwert, so daß unter Umständen nach einer Anregung des Proliferationsspeichers am ersten Tag eine Differenzierung abläuft, die am dritten Tag erst bis zu den Stabkernigen durchlaufen ist. Die Anzahl der Makrophagen ist an allen drei Kulturtagen entgegen der Erwartungen etwas geringer.

3. Blutkulturen bei OMS (n=1)

(Tabelle siehe Kapitel Ergebnisse, S. 45)

a) Zugabe von $2,0$ mg Echinacin pro ml Kultursuspension

Die hohen Werte des Mitoseindex in der Kontrolle am zweiten und dritten Tag sind vorsichtig zu bewerten ($21,2\%$ entspricht

2 Mitosen, 9,0% einer Mitose). In der Echinacinkultur werden dagegen keine Mitosen beobachtet.

Die teilungsfähigen Granuloblasten sind am ersten Kulturtag stark vermehrt ($p=0,975$), um hernach jedoch eindeutig weniger als bei den Kontrollversuchen zu werden ($p=0,99$ bzw. $0,975$). Auch hier ist also eine Stimulation über die ersten 24 Stunden zu verzeichnen.

Die Stabkernigen nehmen analog zu den Versuchen mit Blut bei CML ab, am ersten und dritten Tag sogar hochsignifikant. Spiegelbildlich ist die Zahl der Segmentkernigen durchweg erhöht ($p=0,999$; $0,975$; $0,9995$).

Bei der Berechnung des Reifungsindex fällt eine deutliche Ausreifung ab dem zweiten Tag auf, der eine Stimulierung und Vermehrung der Granuloblasten am ersten Tag vorausgeht. Hier scheint also nicht nur eine beschleunigte Ausreifung, sondern auch eine vermehrte Produktion von Vorläufer-Zellen stattgefunden zu haben.

Die Makrophagen sind an allen drei Tagen vermehrt, ab dem zweiten Tag auch signifikant ($p=0,9$ bzw. $0,995$).

b) Zugabe von 0,2 mg Echinacin pro ml Kultursuspension
Auch hier fällt die Sprunghaftigkeit des Mitoseindex auf. Es entsprechen 8,4% am ersten Kulturtag auch nur einer Mitose.

Die teilungsfähigen Granuloblasten sind am ersten Kulturtag vermehrt, anschließend vermindert. Dieser Verlauf ist ähnlich dem der höheren Echinacinkonzentration und somit wahrscheinlich konzentrationsunabhängig.

Die Wechselbeziehung zwischen Stabkernigen und Segmentkernigen stellt sich folgendermaßen dar: Die Stabkernigen, zunächst hochsignifikant weniger ($p=0,9995$), sind am zweiten Tag hochsignifikant vermehrt ($p=0,995$), um schließlich geringfügig unter die Kontrollwerte zu rutschen. Dementsprechend sind die Segmentkernigen am ersten und dritten Tag eindeutig vermehrt ($p=0,995$ bzw. $0,9995$); zwischendurch ist ihre Anzahl jedoch geringer.

Der Reifungsindex bringt den Beweis einer linearen Ausreifung, nachdem die Granuloblasten zunächst einmal vermehrt vorkommen gegenüber den Kontrollversuchen.

Wie schon bei den CML-Blutkulturen sind die Makrophagen im Gegensatz zu den Kulturen mit der höheren Echinacinkonzentration weniger. Hier scheint also ein konzentrationsabhängiger Unterschied zu bestehen.

4. Blutkulturen bei akuter nichtlymphatischer Leukämie (n=2)

a) Zugabe von 2,0 mg Echinacin pro ml Kulturansatz

Über drei Kulturtage werden keine Mitosen beobachtet. Der Mitoseindex ähnelt dem der Kontrolle, wo allerdings am zweiten Tag eine Mitose gezählt wird (entspricht 2,2%).

Die teilungsfähigen Granuloblasten sind über zwei Kulturtage hochsignifikant vermindert ($p=0,9995$ bzw. $0,995$), am dritten Tag jedoch vermehrt ($p=0,95$). Hier kann angenommen werden, daß die bestehende Ausreifungshemmung teilweise überwunden wird, weil reife Granulozyten vermehrt produziert werden.

Der Anteil der Stabkernigen ist zunächst noch geringer, wird aber größer und ist am dritten Tag hochsignifikant vermehrt ($p=0,995$). Da auch die Segmentkernigen meist hochsignifikant vermehrt sind, vergrößert sich der Anteil der reifen Granulozyten insgesamt zuungunsten der teilungsfähigen Granuloblasten, die somit schneller ausreifen. Im Gegensatz zu den Blutkulturen bei CML ist nicht nur der Differenzierungsschritt vom Stabkernigen zum Segmentkernigen beschleunigt, sondern der gesamte Differenzierungsweg wird schneller durchlaufen. Bestätigt wird diese Annahme durch den rascher fallenden Reifungsindex bei allerdings ähnlichen Endergebnissen. Dieses ist bedingt durch den größeren Granuloblastenanteil, der zuungunsten der Lymphozyten geht.

Die Makrophagen zeigen ein wechselhaftes Verhalten, sind am dritten Tag eindeutig weniger ($p=0,99$) als in der Kontrolle.

b) Zugabe von 0,2 mg Echninacin pro ml Kultursuspension

Beim Mitoseindex zeigt sich eine leichte Überlegenheit der

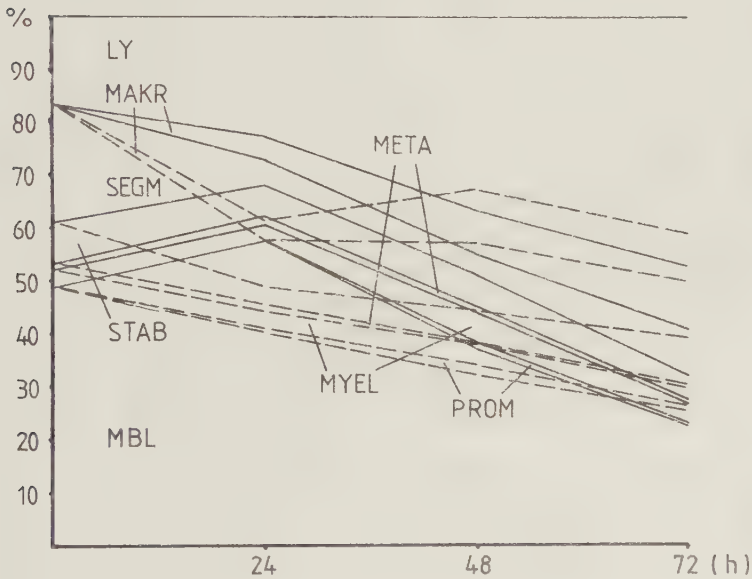
DURCHSCHNITTliche WERTE DER BLUTKULTUREN

BEI ANLL (n=2)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

TEILBILD A

KONTROLLE
ECHINACIN 2,0 MG/ML



KULTURSTD.	ORG	KONTROLLE			ECH. 2,0MG/ML			ECH. 0,2MG/ML		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72
REIFUNGS- INDEX	1,75	4,09	2,47	1,07	2,87	1,33	1,04	2,19	1,10	0,99
MITOSEINDEX (IN ‰)	0	0	22	0	0	0	0	0	3,1	4,5

DURCHSCHNITTliche WERTE DER BLUTKULTUREN

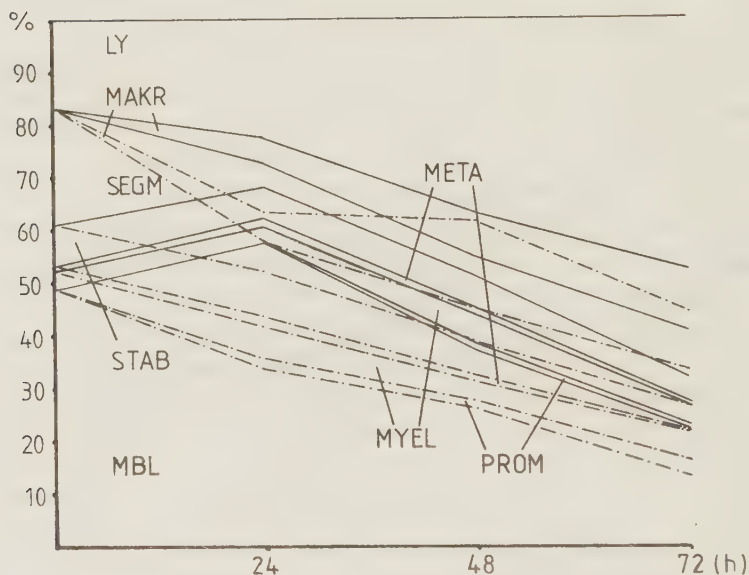
BEI ANLL (n=2)

RELATIVE ANTEILE - WEISSE REIHE

TEILBILD B

KONTROLLE

ECHINACIN 0,2 MG/ML



Kulturen mit Echinacinzusatz, wobei aber auch dieses Ergebnis wegen geringer Fallzahl kritisch bewertet werden muß (keine Signifikanz).

Die teilungsfähigen Granuloblasten sind stets weniger als in der Kontrolle, an den ersten beiden Tagen sogar hochsignifikant ($p=0,9995$). Stabkernige und Segmentkernige sind an den ersten beiden Kulturtagen stark vermehrt ($p=0,9995$ und $0,95$ bzw. $0,999$), am dritten Kulturtag hingegen ist ihr Anteil geringfügig vermindert, und zwar zugunsten der Lymphozyten (gegensätzliches Verhalten im Vergleich zu der höheren Echinacin-

konzentration, daher wahrscheinlich zufällig).

Der Reifungsindex entspricht dem der höheren Echinacinkonzentration: raschere Ausreifung bei ähnlichen Endergebnissen: auch hier dürfte die Ausreifungshemmung zumindest über die ersten beiden Kulturtage etwas durchbrochen worden sein. Die Makrophagen sind zunächst vermehrt ($p=0,95$ bzw. $0,9995$), am dritten Kulturtag aber etwas weniger als in der Kontrolle.

5. Zusammenfassung der gemittelten Ergebnisse nach Krankheitsgruppen (Knochenmark- und Blutkulturen)

Wegen der geringen Fallzahlen von beobachteten Mitosen bei den Blutkulturen läßt sich keine eindeutige Tendenz aufzeigen für die Tatsache, ob die Zugabe von Echinacin eine erhöhte Mitosehäufigkeit bewirkt oder nicht. Dieses läßt sich hingegen für die Knochenmarkkulturen leicht beantworten: 31 beobachteten Mitosen in der Kontrolle stehen 72 (2,0 mg Echinacinzusatz) bzw. 61 Mitosen (0,2 mg Echinacinzusatz) gegenüber. Beide Ergebnisse sind hochsignifikant ($p=0,999$ bzw. $0,995$).

Der Ausfall der karyologischen Kurve läßt vermuten, daß ein etwas verlangsamter Ablauf der Pro- und Anaphase bewirkt wird, während die Metaphase beschleunigt durchlaufen wird. Bezüglich der Auswirkungen auf die teilungsfähigen Granuloblasten muß unterschieden werden zwischen dem zytologisch unveränderten Knochenmark und den Blutkulturen des myeloproliferativen Syndroms (CML und OMS) auf der einen Seite und den akuten Myelo- bzw. Monoblastenleukämien auf der anderen Seite. Für die akuten Leukämien läßt sich nachweisen, daß die bestehende Ausreifungshemmung teilweise durchbrochen wird, ersichtlich in der geringeren Anzahl von Blasten und der vermehrten Produktion von reifen Granulozyten. Dieser Effekt ist am dritten Kulturtag weitgehend abgeklungen.

Bei "normalem" Knochenmark, CML und OMS hingegen ist durchweg eine Stimulierung und Vermehrung der Granuloblasten am ersten Kulturtag zu verzeichnen, auch ausgedrückt durch einen

erhöhten Reifungsindex im Vergleich mit der Kontrolle (bei der Knochenmarkkultur noch zusätzlich bedingt durch einen beschleunigten Zelluntergang der reifen Polymorphkernigen), während an den folgenden zwei Tagen der Granuloblastenanteil fast regelmäßig unter den der Kontrolle absinkt.

Die Stabkernigen sind fast immer vermindert, die Segmentkernigen vermehrt, so daß angenommen werden muß, daß der Differenzierungsschritt vom Stabkernigen zum Segmentkernigen beschleunigt verläuft. Für die akuten Leukämien ergibt sich die Besonderheit, daß auch die Stabkernigen vermehrt gezählt werden, was als Beweis für eine vertikale Ausreifung vom Myelo-/Monoblasten zur reifen, funktionsfähigen Zelle gewertet werden kann.

Die Makrophagen sind nicht immer ganz regelmäßig vermehrt anzutreffen. Ausnahmen ergeben sich insbesondere für die niedrigere Echinacinkonzentration bei den CML- und OMS-Blutkulturen. Eine Beeinflussung der kernhaltigen Vorstufen der Erythropoese muß abgelehnt werden.

Dieses gilt auch für die Lymphozyten, die weder bei den Blutkulturen noch bei den Knochenmarkkulturen in der Tendenz vermehrt oder vermindert anzutreffen sind, unabhängig auch von der Konzentration des Echinacinzusatzes.

Eine Ausnahme ergibt sich für die Blutkulturen bei akuter Leukämie hinsichtlich der niedrigeren Konzentration, da hier die Lymphozyten stark vermehrt sind.

Vergleicht man nun die Wirkung von 2,0 mg Echinacin pro ml Kultursuspension mit der Wirkung von 0,2 mg Echinacin pro ml Kultursuspension, so lassen sich in der Tendenz keinerlei Unterschiede aufzeigen, wohl aber eine etwas größere "Regelmäßigkeit" der höheren Echinacinkonzentration hinsichtlich der oben beschriebenen Ergebnisse. Die Wirkungen sind am dritten Kulturtag bei den Kulturen mit 0,2 mg Echinacinzusatz weitgehend verblaßt (siehe auch Anhang).

5. DISKUSSION

1. Technik

Die hier verwendete Suspensionskulturtechnik hat gegenüber der Agarkulturtechnik den entscheidenden Vorteil, daß auch die absolute Gesamtzahl der Zellen pro μ l (oder ml) gezählt werden kann als zusätzliches Kriterium zur Differentialzählung (13, 55), und daß außerdem das Verhalten der Zellen in der Suspensionskultur demjenigen in vivo zumindest über die ersten 24 Stunden sehr ähnlich ist (55). Dagegen reifen insbesondere die polymorphkernigen Granulozyten bei der Agar-Technik schneller als in vivo aus und gehen auch schneller zugrunde (30).

Für ein optimales Zellwachstum ist es von Bedeutung, eine bestimmte Zelldichte zu erreichen und diese konstant für alle Versuche anzuwenden (10). Die meisten Autoren liegen dabei zwischen 1.000.000 und 7.000.000 Zellen pro ml (hier: 2.000.000/ml bzw. 2.000/ μ l)(87, 100). Geringere Zelldichten wie z.B. 250.000/ml zeigen eine sehr viel raschere Differenzierung in Richtung Makrophagenproduktion (87) und sind daher den in vivo-Bedingungen zu unähnlich.

Um in vivo-Bedingungen nachzuahmen, werden die Kulturen bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt, da sonst eine Reifungshemmung der roten und weißen Reihe sowie eine verminderte Mitosehäufigkeit die Ergebnisse verfälschen würde (2, 5).

Knochenmark- und Blutkulturen sind als gemischte Populationen in ihren Ernährungsansprüchen sehr verschieden (55). Deshalb wird zusätzlich zum RPMI-Nährmedium nicht-autologes AB-Plasma hinzugefügt. (Da alle Versuchspersonen hämatologisch erkrankt sind, wird so der Einfluß von etwaig vorhandenen Serumfaktoren ausgeschlossen, die die Zelldifferenzierung in eine bestimmte Richtung bewegen würden.)

Vergleichende Zellkulturuntersuchungen mit Plasma oder Serum - welches ebenfalls von vielen Autoren verwendet wird - als Nährmedium (37) haben ergeben, daß Serum in Plastikröhrchen

ein sehr viel kräftigeres Zellwachstum bewirkt als Plasma. Dieses wird zurückgeführt auf einen bestimmten Thrombozyten-Wachstumsfaktor, der durch Fibrinogen normalerweise überdeckt wird.

Dialysiertes humanes Serum erreicht noch einmal ein stärkeres Zellwachstum im Tierversuch als undialysiertes (22) durch die Heraustrennung von bestimmten Albumin- bzw. Globulinfraktionen.

Als Beobachtungsdauer der Kulturen werden 72 Stunden für ausreichend gehalten, "da die Blutzellvorstufen, die nicht ausreifen, später entdifferenzieren und fibroblastisch umgewandelt werden" (Zitat: BOLL, 13).

Als Kriterien für die Auswertung der Kulturen gelten der Mitoseindex als Maß für das Zellwachstum (55) und die Proliferation und Differenzierung der einzelnen Zelltypen (9), um die Echinacin-spezifischen Veränderungen erfassen zu können.

2. Original und Kontrolle

a) Mitosen

Die Mitoseaktivität der Granuloblasten beim Sofortausstrich des Sternal- oder Beckenkammpunktats (Original) wird sowohl bei der Kontrolle (als auch bei den Kulturen mit Echinacin-zusatz) an allen drei Kulturtagen deutlich überschritten. Dieses wird bedingt durch den zunächst hemmenden Einfluß der Homogenisierung des frischen Versuchsmaterials (12, 77). Andere Autoren (1, 33) hingegen gehen prinzipiell von einer erhöhten Mitoseaktivität von kultivierten Zellen gegenüber Zellen *in vivo* aus, zumindest jedoch für einen Zeitraum von 24-72 Stunden. Insgesamt liegen die hier ermittelten Mitoseindices unter denjenigen der in der Literatur angegebenen Ergebnisse für Knochenmark bei nicht hämatologisch Erkrankten (14, 46), so daß man doch von einer gewissen Versehrtheit des verwendeten Knochenmarkes und von Medikamenteneinflüssen ausgehen muß.

Die erstellte karyologische Kurve der Kontrollversuche für die Knochenmarkkulturen ähnelt derjenigen bei BOLL (8, 14) mit einem Anstieg von Prophase zu früher Metaphase, Spitze bei später Metaphase, Abfall zur Anaphase und nochmaligem geringen Anstieg von der Telo- zur Rekonstruktionsphase. Der durchschnittliche Mitoseindex der Kulturen bei CML in Original und Kontrollversuchen liegt meistens unter demjenigen der normalen Granulopoese im Knochenmark (8, 14) und pendelt sich nach etwa 48 Stunden auf ein konstantes Niveau ein. Der bei den eigenen Versuchen beobachtete Anstieg am dritten Tag ist zufällig und auf die geringen Fallzahlen zurückzuführen. Dieses gilt auch für den sprunghaften Mitoseindex der OMS-Blutkulturen.

Bei der akuten myeloischen bzw. monozytären Leukämie besteht eine Ausreifungshemmung, die sowohl die Zelldifferenzierung als auch die Zellregeneration betrifft. Deshalb ist auch der Mitoseindex grundsätzlich gegenüber der normalen Granulopoese erniedrigt (8, 14, 16), wenn auch die Ausreifungshemmung in der Kultur sowieso teilweise durchbrochen wird (16, 32). Dieses ist hier bezüglich der Mitosen wegen geringer Fallzahlen nur bedingt nachzuweisen. Die erst nach 48 Stunden auftretenden Mitosen sprechen für eine gewisse "Anlaufzeit" der Zellregeneration.

b) Proliferationskinetik

Nicht nur das Blut hämatologisch Erkrankter, sondern auch solches von gesunden Probanden läßt sich über mehrere Tage und Wochen kultivieren, ohne daß die Zelldifferenzierung schon nach zwei oder drei Tagen nur noch zu Abbauformen führt. Unter den peripheren Zellen gesunden Blutes finden sich bei der Agarkulturtechnik etwa im Verhältnis 1:10.000 agarkoloniebildende Einheiten (CFUc = colony forming unit in culture), die vermutlich identisch mit den determinierten granulozytopoetischen Stammzellen sind, als auch weitere, reifere Vorstufen der Granulopoese (9, 24, 54, 78).

Diese kernhaltigen Vorstufen sind um so zahlreicher bei den

hämatologisch Erkrankten im peripheren Blut vorhanden, so daß bei bestimmten Fragestellungen Blutkulturen angelegt werden, die hier eine Differentialzählung ermöglichen. Die Gewinnung von Knochenmark und dessen Kultivierung ist somit nicht unbedingt erforderlich.

Folgende Entwicklungen bei der Proliferationskinetik von Knochenmark- und Blutkulturen (Suspensionskulturtechnik) sind sowohl bei den eigenen Versuchen als auch bei denen von anderen Autoren zu beobachten: nach 24 Stunden findet eine Linksverschiebung mit einer Regeneration der teilungsfähigen Vorstufen der weißen Reihe bei gleichzeitigem Untergang der polymorphkernigen Granulozyten statt (13, 14, 35, 77). Diese sind nach zwei bis drei Tagen meist voll nachgebildet oder übersteigen sogar die Anzahl des Ausgangswertes.

Die Myeloblasten bleiben weitgehend konstant, Promyelozyten und Myelozyten proliferieren über 48 Stunden und werden danach wieder weniger (13, 14, 35). Die Metamyelozyten sind meist in gleicher Anzahl anzutreffen (9), wogegen Stabkernige und Segmentkernige nach 48 bzw. 72 Stunden deutlich vermehrt sind. Die Erythroblasten-Differentialzählung verschiebt sich von den unreiferen basophilen und polychromatischen Erythroblasten zu den reiferen oxyphilen und reifen Erythroblasten (13); der Gesamtzellgehalt der roten Reihe nimmt bereits nach 24 Stunden rasch ab (12, 35).

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von BOLL (12) wird bei den Knochenmarkversuchen in der weißen Reihe keine Vermehrung der Gesamtzellzahl über 48 Stunden beobachtet, sondern bestenfalls eine etwa konstante Zahl, die nach 72 Stunden doch meist deutlich absinkt. Nach SUMNER (87) wird bei Mäuseknochenmark der höchste Anstieg bereits nach 6 Stunden verzeichnet, während GOLDE (36) einen stetigen Abfall der Zellen bis zum vierten Kulturtag beschreibt.

Bei den eigenen Versuchen mit akuten nichtlymphatischen Leukämien hat dieser Verlauf der raschen Zelldegeneration schon nach 24 Stunden massiv eingesetzt.

Die Lymphozyten zeigen keine ausgesprochene Wachstumstendenz: sie sind entweder etwas vermehrt (13, 35), vermindert (36) oder konstant (35, 88) auch über den Kulturzeitraum von 72 Stunden hinaus anzutreffen. Über das Verhalten der Lymphozyten bei ANLL (siehe S. 61/62) liegen uns aus der Literatur keine Angaben vor.

Einen rasch steigenden, immer größeren Anteil nehmen dagegen die Makrophagen ein (1, 13, 35, 36, 73, 88), die bei längeren Kulturzeiträumen letztlich zum vorherrschenden Zelltyp werden. Als Besonderheiten zeigen die Kulturen bei CML eine stärkere Proliferation der Myeloblasten und Promyelozyten (14), die bei den eigenen Versuchen auch zu verzeichnen sind. Dagegen kann ein Anstieg der absoluten Zellzahl über mehrere Tage (36) nur zeitweise beobachtet werden.

Die für das Knochenmark bei akuter nichtlymphatischer Leukämie beschriebene "zeitabhängige Reifung bis zu den Myelozyten am dritten Kulturtag" (14) ist in unseren Blutkulturen nicht so ausgeprägt und betrifft eher den gesamten vertikal verlaufenden Differenzierungsweg vom Blasten zur reifen Zelle. Der rasche Abfall der Gesamtzellzahl (36, 85) bei Verwendung von humanem AB-Serum als Wachstumsstoff zum Kulturmedium kann bestätigt werden.

Insgesamt sollen Blutkulturen einen etwas schnelleren Zelluntergang als vergleichbare Knochenmarkkulturen zeigen (16). Dieses ist nach KOEPPEN (50) bei der ANLL jedoch abhängig von der Fähigkeit der Blasten zur Transformation und Ausreifung in den granulo- bzw. monopoetischen Differenzierungsweg, nachdem diese aus ihrer Mikroumgebung herausgenommen sind. Nach seinen Untersuchungen ergibt sich eine gute Korrelation zwischen der Ausreifung der Blasten in der Blutkultur und der Möglichkeit, durch die Therapie eine komplette Remission zu erzielen. Die Prognose für Patienten, deren Blasten in der Kultur nicht ausreifen und schnell degenerieren, ist um so ungünstiger.

3. Knochenmark- und Blutkulturen bei Echinacinzusatz

Da uns vergleichbare Suspensionskulturversuche mit dem pflanzlichen Pyrogen Echinacin als Stimulans aus der Literatur nicht bekannt sind, wird die Wirkung des Echinacins mit derjenigen von (meist mikrobiellen) Endotoxinen verglichen. Ein solcher Vergleich ist insofern gerechtfertigt, als daß im Echinacin-Preßsaft unter anderem auch den Bakterienlipopolysacchariden ähnliche Polysaccharide vorhanden sind, deren entsprechende Wirkungen nachgewiesen sind (95).

Werden minimale Dosen von hochgereinigten Lipopolysacchariden systemisch verabfolgt, so beobachtet man analog zur Echinacinwirkung nach etwa ein bis drei Stunden post injectionem eine Neutropenie (23, 42, 74, 100), die wenige Stunden später in eine Granulozytose umschlägt (23, 29, 41, 42, 43, 100). Die initiale Neutropenie wird vermutlich durch eine Erhöhung des an den Gefäßwänden (z.B. Lungenkapillaren) haftenden Granulozytenanteils oder auch durch den Austritt von Zellen aus der Blutbahn ins Gewebe bewirkt (23, 29, 42, 43). Zu einer Ausschüttung von reifen Granulozyten kommt es durch die direkte Einwirkung von Endotoxin auf das Knochenmark (21, 29, 42, 43, 73, 100), eventuell auch auf den marginalen Granulozytenspeicher der Gefäßwände (41). Gleichzeitig werden vermehrt Stammzellen ins Blut abgegeben (28, 61, 74).

Eine Ausnahme stellt die OMS dar, da die extramedullären Blutbildungsherde nicht wie das Knochenmark reagieren und eine periphere Granulozytose unterbleibt (41). Vor allem aber verursacht der Milztumor eine erhebliche Verteilungsstörung (9) der Granulozyten.

Eingeschränkt ist auch die Wirkung von Endotoxin auf das akut oder chronisch leukämische Knochenmark (41).

a) Mitosen

HERION (42) läßt aufgrund seiner Untersuchungen die Frage offen, ob Endotoxin die Mitoserate direkt erhöht oder ob sie reaktiv erhöht wird, weil die Speicher der postmitotischen Granu-

lozyten im Knochenmark leer geworden sind und somit ein Stimulus für eine beschleunigte Proliferation gegeben ist. Eine reaktive Erhöhung der Mitoserate z.B. nach Entleerung der Knochenmarkspeicher wird nach BULLOUGH (19) ganz allgemein durch das Absinken des Wirkspiegels von humoralen Bremsstoffen = Chalonen vermittelt. Chalone wirken nicht gewebetoxisch, die Proliferation reversibel hemmend, gewebsspezifisch, aber artunspezifisch. Ihr Wirkprinzip ist ein negativer Rückkopplungsmechanismus. HERION beobachtet bei in vivo-Tierversuchen eine Verdopplung der Myeloblasten im Knochenmark 48 Stunden nach Endotoxin-Gabe und eine Rückkehr zu Normalwerten frühestens nach 72 Stunden.

BOGGS (7), CLINE (28), OSTLUND (72) und QUESENBERRY (74) beschreiben darüber hinaus eine Verkürzung der Ausreifungszeit und eine beschleunigte Produktion der granulopoetischen Zellen im Knochenmark, so daß eine Wirkung von Endotoxin nicht nur auf den Reservespeicher, sondern auch auf den Reifungsspeicher (9, 28) als gesichert angesehen werden kann. Bei den eigenen Versuchen wird zumindest für die Knochenmarkkulturen eine hochsignifikante Vermehrung der Mitosen berechnet, mit der die erste Annahme von HERION bestätigt werden kann. KOCH und UEBEL (49) beschreiben eine signifikant erhöhte Mitoserate in der Nebennierenrinde von Versuchstieren nach Echinacin-Gabe über einen Zeitraum von drei Tagen. Man darf also annehmen, daß die Aktivierung des Knochenmark-Proliferationsspeichers der Granulopoese einmal durch direkten Einfluß des Endotoxins (Echinacins) zustande kommt, zum anderen durch die Produktion einer bestimmten, die Granulopoese fördernden Substanz (CSF = colony stimulating factor) aus schnell degenerierten Granulozyten, wie es durch die Wirkung von Postendotoxinserum mit vernachlässigbar niedrigem Endotoxinspiegel auf Blut- bzw. Knochenmarkkulturen nachgewiesen werden kann (20, 23, 42, 74, 100). QUESENBERRY zieht dabei die Produktion von bestimmten Faktoren der Lymphozyten oder Thrombozyten in Betracht (73).

b) Proliferationskinetik

Die bei den eigenen Versuchen konstant auftretende Vermehrung der teilungsfähigen Granuloblasten über 24 Stunden, gefolgt von einem Einpendeln auf Kontrollwertniveau, wird durch die Angaben mehrerer Autoren bestätigt. Eine Ausnahme bilden die akuten nichtlymphatischen Leukämien, bei denen aber auch eine andere Problematik vorliegt.

BYRNE (21) beobachtet bei normalem Mäuseknochenmark in vivo nach Gabe von 50 µg Salmonella abortus equi - Endotoxin je Versuchstier sogar über einen Zeitraum von 72 Stunden eine starke Vermehrung der Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten, einen Abfall dagegen des Myeloblastenanteils. MACVITTIE (61) beschreibt bei in vivo Versuchen mit Hundeknochenmark (10 µg Salmonella typhosa - Endotoxin je Versuchstier) einen Gesamtanstieg der Zahl der teilungsfähigen Granuloblasten bis zu 48 Kulturstunden, gefolgt von einer raschen Abnahme.

Bei in vivo Versuchen mit Mäuseknochenmark (5 µg Salmonella typhosa - Endotoxin je Versuchstier) verzeichnet QUESENBERRY (73, 74) einen signifikanten Anstieg des Myeloblasten- und Promyelozytenanteils nach 24 Stunden. Myelozyten sind erst nach 48 Stunden vermehrt nachgebildet.

Zu gegensätzlichen Resultaten gelangen dagegen HERION (42) (2,5 bis 60 µg E.coli - Lipopolysaccharid je Kaninchen) und BYRNE (21) bei in vivo-Versuchen bezüglich der teilungsfähigen Granuloblasten nach Endotoxin-Gabe. Während ersterer eine Verdopplung der Myeloblasten nach 48 Stunden im Tierknochenmark beobachtet, beschreibt zweiterer eine Abnahme der Zahl der teilungsfähigen Granuloblasten und Monoblasten infolge von Ausschwemmung ins periphere Blut, die durch verbreiterte Spalten zwischen den sinusoidalen Endothelzellen im Knochenmark bedingt ist. BYRNE erwägt aber auch einen nicht näher definierten, direkten toxischen Effekt des Endotoxins auf die teilungsfähigen Zellen. Erst danach kommt es zu einer Zunahme der Proliferation und Nachbildung dieser Zellen.

Ein ebenfalls weitgehend konstantes Ergebnis zeigt die be-

beschleunigte Ausdifferenzierung vom Stabkernigen zum Segmentkernigen bei den eigenen Versuchen, ohne daß dabei der Gesamtpool der reifen Granulozyten wesentlich vergrößert wird gegenüber den Kontrollversuchen. Ein signifikanter Zuwachs von Segmentkernigen geht meist auf Kosten des Stabkernigenanteils sowohl in der Knochenmark- als auch in der Blutkultur, insbesondere nach Zusatz von 2,0 mg Echinacin pro ml.

Bei den akuten Leukämien dagegen wird ein Gesamtzuwachs des Granulozytenpools verzeichnet, der für eine etwas stärkere Stimulierung der Ausreifung spricht.

Widersprüchlich bleiben auch hier die Angaben der Literatur. MACVITTIE (61) findet einen Abfall der reifen Granulozyten über mindestens 48 Stunden, QUESENBERRY (74) eher konstante Werte für die Stabkernigen und erst nach 48 Stunden erhöhte Werte für Segmentkernige, während WILLEMZE (100) (in Kaninchen implantierte Diffusionskammern mit Knochenmark, 20-30 µg Salmonella typhosa je Versuchstier) insgesamt einen signifikanten Zuwachs von reifen Granulozyten erhält.

Bestätigend zu den eigenen Ergebnissen erzielen auch andere Autoren (44, 61, 100) eine signifikante Vermehrung der Makrophagen in den Kulturen. Eine Aktivierung der Makrophagen (53, 81) (vermutlich ja auch ihre beschleunigte Neubildung im Knochenmark (80)) und eine stärkere Ausbildung von Phagozytenrandsäumen bei Infektionsherden sind bereits als spezifische Echinacinwirkungen erkannt worden.

Hinsichtlich der Wirkungen von Endotoxin auf die Zellen der Erythropoese werden ebenfalls widersprüchliche Angaben gemacht: eine Abnahme der Zellzahl der roten Reihe (21, 73) über 48 bzw. 72 Kulturstunden, ein weitgehend unverändertes Auftreten (74), aber auch signifikante Zunahmen werden beschrieben (100). Nach den eigenen Ergebnissen muß eine Beeinflussung der Zelldifferenzierung als auch der Zellproliferation ausgeschlossen werden.

MACVITTIE (61) verzeichnet bei seinen Versuchen betreffs der absoluten Zellzahl mit Postendotoxin - Knochenmark bzw. -Blut in Diffusionskammern mit Mäusen als Wirtstieren einen Anstieg

dieser Zahl auf 480% bei den reifen und auf 240% des Ausgangswertes bei den teilungsfähigen Zellen der weißen Reihe. Diese Ergebnisse können bei den eigenen Versuchen nicht erzielt werden. Ein direkt toxischer Effekt wie bei BYRNE (21) beschrieben, trifft aber sicher auch nicht zu, da die Zelldichte der Kontrollversuche teils über-, teils unterschritten werden.

Eine wichtige Überlegung ist, wenn auch in der Knochenmark- oder Blutkultur nicht nachprüfbar, die Wirkung des Echinacins auf die Hypophyse und somit auf die Nebennierenrinde. Die freigesetzten Glukokortikoide und (in geringerem Ausmaß) Mineral-kortikoide beeinflussen das Knochenmark teilweise auf gegen-gesetzte Art und Weise: BOLL (16) und WEISSENFELS (97) beobachten für die Versuchsstoffe Prednisolon und Triamcinolon in der Knochenmarkkultur eine verminderte Proliferation der Granulopoese und der Erythropoese. Bei der karyologischen Kurve werden mehr Metaphasen beobachtet als Hinweis auf eine Hemmung des Spindelapparates. HOFF (44) und REISNER (72) weisen bei Versuchen mit Prednisolon auf eine geringere Phagozytoserate hin.

Zu weiteren Ergebnissen bezüglich der Granulozytenproliferation gelangen BOLL (15) und REISNER (75) bei verschiedenen Hormonen mit Steroidgerüst: Östrogen soll deren Proliferation fördern (15, 75), Testosteron die Erythropoese anregen und Prednisolon eine kontinuierliche Differenzierung aller Blutelemente bewirken (75). SUDA (86) unterscheidet dagegen konzentrationsabhängige Effekte seines Versuchsstoffes Hydrokortison: ein stärkeres, kürzeres Zellwachstum zeigen Kulturen mit geringer Hydrokortisonkonzentration (10^{-8} bzw. 10^{-7} Mol), ein schwächeres längeres Zellwachstum solche mit höherer Konzentration (10^{-6} bzw. 10^{-5} Mol).

Wie letztendlich in vivo der Summationseffekt aller durch das Echinacin freigesetzten Steroide (s.o.) bezüglich der Granulopoese über den direkten Effekt des Echinacins hinaus aussieht, muß unbeantwortet bleiben.

Auch Ascorbinsäure, die während der sympathischen, pyrogenen Phase nach Echinacingabe vermehrt ins Blut ausgeschüttet wird, fördert die Ausreifung von Granuloblasten in vitro (83). Dieser Effekt des Echinacins bei systemischer Verabfolgung dürfte sich ebenfalls positiv in der Anwendung bei akuten Leukämien auswirken.

Es sollte außerdem in Erwägung gezogen werden, ob die dem Endotoxin nachgesagte Tumor-Abwehr (20), die beim Echinacin wegen des erhöhten Properdinspiegels bzw. wegen des Hyaluronidasehemmeffektes beschrieben ist (65, 71), auch für die Abwehr und Ausbreitungseinschränkung von neoplastischem Knochenmark durch den Organismus gilt.

Abschließend bleibt noch die Frage der Dosierung offen: um die in den Kulturen verwendeten Echinacinkonzentrationen von 2,0 mg bzw. 0,2 mg pro ml Kultursuspension im menschlichen Organismus herstellen zu wollen, müßte man, ausgehend von einer durchschnittlichen Blutmenge von 5 Litern, 200 ml bzw. 20 ml Echinacin injizieren (Wirkstoffgehalt 0,05 g = 50 mg/ml). Bei solch hoher Dosierung eines Endotoxins liegt die Gefahr eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens (9) nahe, zumal die therapeutische Breite vom Hersteller mit 1-3 ml für Injektionen angegeben wird. HEUSCHNEIDER (43) und KOCH (49) können allerdings (im Gegensatz zum Pyrexal) selbst bei Verabfolgung einer 30-mal höheren als der therapeutischen Menge im Tierversuch keinerlei toxische Schäden feststellen. HEESSEN (40) berichtet bei einer Therapie von Tuberkulosekranken von Injektionsmengen bis zu 7 ml pro Tag und Injektion. Folglich ist ein anfänglicher Wirkspiegel von annähernd 0,05 - 0,1 mg/ml Blut auch beim Menschen ohne größere Nebenwirkungen oder toxische Schäden erreichbar, während Wirkspiegel von 2,0 mg/ml Blut selbstverständlich illusorisch sind.

Zurückkommend zu den in der Einleitung aufgeworfenen Fragen läßt sich nach Abschluß der Untersuchung (und klinischen Tests) folgendes feststellen:

1. Mit Hilfe von Knochenmark- und Blutkulturen kann demonstriert werden, daß Echinacin nicht nur als Ausschwemmungsfaktor (LIF = leucocytes inducing factor) wirkt (Wirkungsweise vom Echinacin - Provokationstest her bekannt).
2. Vielmehr läßt sich aufzeigen, daß Echinacin in unphysiologisch hohen Dosen durch direkte Einwirkung die Proliferation der normalen Granulopoese in der Knochenmarkkultur anregt analog zu der Wirkungsweise einiger oben beschriebener Kortikosteroide.
Bestimmte Differenzierungsschritte der Granulopoese verlaufen nach Echinacinzusatz beschleunigt; der Mitoseindex ist erhöht.
3. Nicht nur die Proliferation der normalen Granulopoese, sondern auch diejenige der pathologisch veränderten Granulopoese wird angeregt, wie durch Blutkulturen bei chronisch-myeloischer Leukämie (CML), Osteomyelosklerose (OMS) und akuter nichtlymphatischer Leukämie (ANLL) nachgewiesen werden kann.
Wichtigstes Ergebnis bei den Blutkulturen ist eine Stimulierung zur Ausreifung der Granuloblasten bei den akuten Leukämien.
4. Mit Bezug auf die in der Einleitung angeführte Literatur kann angenommen werden, daß Echinacin bei geschwächter Infektabwehr (z.B. bei akuter Leukämie) Antibiotika einsparen hilft oder sogar diese ersetzt. Hier bleibt allerdings die Dosierung fraglich.

6. ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

Knochenmarkkulturen mit zytologisch unverändertem Knochenmark sowie Blutkulturen mit Blut von Patienten mit den Diagnosen chronisch-myeloische Leukämie (CML), Osteomyelosklerose (OMS) und akute nichtlymphatische Leukämie (ANLL; hier akute Monoblasten- bzw. Myeloblastenleukämie) wurden unter Zugabe von Echinacin[®], einem haltbar gemachten Preßsaft aus der frisch blühenden Echinacea purpurea, in einer Konzentration von 2,0 mg bzw. 0,2 mg pro ml Kultursuspension über 72 Stunden inkubiert.

Jeweils nach 24, 48 und 72 Kulturstunden wurden Differentialzählungen vorgenommen, die Zelldichte bestimmt und mit Kontrollpräparaten verglichen.

Bei den Knochenmarkkulturen zeigt sich eine hochsignifikante Erhöhung des Mitoseindex der Granulo- und Monopoese. Eine Vermehrung der teilungsfähigen Granuloblasten am ersten Kulturtag gefolgt von einem Einpendeln auf Kontrollwertniveau an den späteren Tagen, eine beschleunigte Differenzierung vom Stabkernigen zum Segmentkernigen bei annähernd gleich großer Gesamtzahl von reifen Granulozyten sowie eine meist erhöhte Anzahl von Makrophagen werden auch bei den CML- und OMS-Blutkulturen gefunden.

Die Blutkulturen bei akuter Leukämie zeigen dagegen einen hochsignifikant verminderten Granuloblastenanteil, da die bestehende Ausreifungshemmung teilweise durchbrochen wird, und eine vertikal verlaufende Differenzierung stattfindet. Die Stab- und die Segmentkernigen werden vermehrt produziert und somit die Gesamtzahl der reifen, funktionsfähigen Granulozyten heraufgesetzt.

Die Erythropoese bleibt in der Knochenmarkkultur hinsichtlich der Differentialzählung und ihres absoluten Anteils von dem Echinacin-Zusatz unbeeinflusst.

Auch die Lymphopoese wird durch das Echinacin weder gehemmt noch stimuliert. Eine Ausnahme ergibt sich für die Blutkulturen bei akuter Leukämie, da hier die Lymphozyten bei der niedrigeren Echinacinkonzentration stark vermehrt sind.

Ein unterschiedlicher Ausfall der Proliferationskinetik hinsichtlich der unterschiedlichen Echinacinkonzentrationen ergibt sich nicht, obwohl die oben aufgezeigten Ergebnisse bei den Kulturen mit 2,0 mg Echinacin pro ml Kultursuspension regelmäßiger zu verzeichnen sind.

Da uns vergleichbare Studien aus der Literatur nicht bekannt sind, werden die Ergebnisse in der Diskussion mit Kulturversuchen nach Gabe von bakteriellen Endotoxinen verglichen und eine weitgehende Übereinstimmung festgestellt.

Nach Abschluß der Untersuchungen erscheint der Einsatz von Echinacin zur Therapie von bestimmten Neoplasien des blutbildenden Knochenmarks gerechtfertigt (s. S. 8, 14/15).

Nach den vorliegenden Untersuchungen bieten sich dafür insbesondere die akuten nichtlymphatischen Leukämien an. Hier könnten bei gleichzeitiger Gabe von Echinacin Kortikosteroide (und Antibiotika) eingespart werden, selbstverständlich unter dem Vorbehalt der Vergleichbarkeit von in vitro-Versuchen mit in vivo-Bedingungen (32).

- 7) BOGGS, D.R. Homeostatic Regulatory Mechanism of Hematopoiesis
Ann Rev Physiol 28 (1966), 39
- 8) BOLL, I. Granulozytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg 1966
- 9) dies. Granulozytopoese - Morphologie, Physiologie, Kinetik und Funktion
in: Handbuch der Inneren Medizin, Band II/3
Leukozytäres und retikuläres System I
Herausgegeben von H. BEGEMANN
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1976
- 10) dies. Knochenmarkkulturen
in: Das Knochenmark
Herausgeber W. QUEISSER
Georg Thieme Verlag
Stuttgart 1978
- 11) dies. Zytologische Knochenmarkdiagnostik
zweite, neubearbeitete Auflage
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1980
- 12) BOLL, I. Quantitative Bestimmung der Proliferationskinetik des menschlichen Knochenmarks während drei Kulturtagen
COLLMANN, H.
AUST, C.
Blut 31 (1975), 201

- 13) BOLL, I. Vereinfachtes Verfahren zur kurz-
FUCHS, G. fristigen Kultivierung von
menschlichem Knochenmark in vitro
Blut 7 (1961), 257
- 14) BOLL, I. Morphologische Untersuchungen zur
MERSCH, G. Proliferationskinetik der norma-
len und pathologischen Granulozy-
topoese in vitro
Blut 19 (1969), 257
- 15) BOLL, I. Hormoneinwirkung auf die Proli-
MERSCH, G. liferationskinetik humaner Knochen-
SCHOEN, S. markkulturen
GÖTTKE, U. Klin Wschr 46 (1968), 608
BOXHEIMER, D.
LUCKE, G.
- 16) BOLL, I. Die Proliferationskinetik der
WEISSENFELS, I. akuten Erwachsenen-Leukämien,
KOSS, G. untersucht an der Knochenmark-,
HERM, B. Blut- und Phytohämagglutinininkul-
tur
BOLL, I. Einführung in den Gesprächskreis
Proliferationskinetik der Leukä-
mien
in: R. GROSS, J. VAN DE LOO
Leukämie
Springer Verlag
Berlin 1972
- 17) BORTZ, J. Lehrbuch der Statistik für So-
zialwissenschaftler
korrigierter Nachdruck der ersten
Auflage
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1979

- 18) BÜSING, K.-H. Hyaluronidasehemmung durch Echinacin
Arzneimittel - Forsch 2 (1952), 467
- 19) BULLOUGH, W.S. Epigenetic Mitotic Control
LAURENCE, E.B. In: Control of Cellular Growth in Adult Organisms
Academic Press
London, New York 1967
- 20) BUTLER, C. Bone marrow colony - stimulating factor and tumor resistance - enhancing activity of postendotoxin mouse sera
ABDELNOOR, A.M. Proc Natl Acad Sci USA 75 (1978), 2893
NOWOTNY, A.
- 21) BYRNE, P.V. Endotoxin - induced changes in the interrelationship of density subpopulations of granulocyte - macrophage progenitor cells
HEIT, W. J Lab Clin Med 96 (1980), 903
HEIT, H.
KUBANEK, B.
- 22) CHAN, S.H. Stimulation and Inhibition by Normal Human Serum of Colony Formation in Vitro by Bone Marrow Cells
METCALF, D. Brit J Haemat 20 (1971), 329
STANLEY, E.R.
- 23) CHERVENICK, P.A. Effect of endotoxin and postendotoxin plasma on in vitro granulopoiesis
J Lab Clin Med 79 (1972), 1014

- 24) CHERVENICK, P.A.
BOGGS, D.R. In Vitro Growth of Granulocytic
and Mononuclear Cell Colonies
From Blood of Normal Individuals
Blood 37 (1971), 131
- 25) CHONE, B. Gezielte Steuerung der Leukozy-
ten-Kinetik durch Echinacin
Ärtzl Forsch 11 (1965), 611
- 26) ders. Hämatologische Funktionsdiagnostik
in der Radiologie
Urban und Schwarzenberg
München 1974
- 27) CHONE, B.
MANIDAKIS, G. Echinacin - Test zur Leukozyten-
provokation bei effektiver Strah-
lenthherapie
Dtsch Med Wschr 27 (1969), 1406
- 28) CLINE, M.J.
GOLDE, D.W. Mobilization of Hematopoietic Stem
Cells (CFU-C) into the Peripheral
Blood of Man by Endotoxin
Exp Hemat 5 (1977), 186
- 29) CRADDOCK, C.G.
PERRY, S.
VENTZKE, L.E.
LAWRENCE, J.S. Evaluation of Marrow Granulocytic
Reserves in Normal and Disease
States
Blood 15 (1960), 840
- 30) DAO, C.
METCALF, D.
ZITTOUN, R.
BILSKI-PASQUIER, G. Normal Human Bone Marrow Cultures
in Vitro: Cellular Composition and
Maturation of the Granulocytic
Colonies
Brit J Haemat 37 (1977), 127

- 31) DJONLAGIC, H. Leukopoesis und alkalische Leuko-
FEIEREIS, H. zytenphosphatase im Echinacin-
Test bei Colitis ulcerosa
Zschr Gastroenterol 13 (1975), 19
- 32) DUTTERA, M.J. Cytogenetically Abnormal Cells
BULL, J.M.C. in Vitro in Acute Leukemia
WHANG-PENG, J. Lancet 1 (1972), 715
CARBONE, P.P.
- 33) FARNES, P. Tissue Culture Studies of Human
BARKER, B.E. Bone Marrow. I. Maturation of
Granulocytes in Chemically Defined
Medium
J Nat Cancer Inst 39 (1967), 1045
- 34) FAVEZ, G. La médication anti-inflammatoire
AGUET, F. non spécifique dans le traitement
BOSSY, A. de la tuberculose pulmonaire
évolutive
Helv Med Acta 21 (1954), 464
- 35) FRIEDERICI, L. Das Verhalten des Knochenmarkes in
der Gewebekultur
Folia hämat (Lpz.) 74.(1957), 22
- 36) GOLDE, D.W. Growth of Human Bone Marrow in
CLINE, M.J. Liquid Culture
Blood 41 (1973), 45
- 37) GOSPODAROWICZ, D. Do plasma and serum have different
ILL, C.R. abilities to promote cell growth?
Proc Natl Acad Sci USA 77 (1980),
2726

- 38) HECKNER, F. Praktikum der mikroskopischen
Hämatologie
5. Auflage
Urban und Schwarzenberg
München, Wien, Baltimore 1981
- 39) HEESSEN, W. Die diagnostische und therapeuti-
HEYDE, W. sche Bedeutung der Glukuronidaus-
scheidung bei der Tuberkulose
Ärztl Wschr 14 (1959), 483
- 40) HEESSEN, W. Die Bedeutung des Echinacin in
SCHROEDER, C. der Tuberkulose - Therapie
Med Mschr 14 (1960), 251
- 41) HEILMEYER, I. Funktionsprüfung der Leukopoese
des Knochenmarks
Dtsch Med Wschr 82 (1957), 644
- 42) HERION, J.C. Effects of Endotoxin and Nitrogen
WALKER, R.I. Mustard on Leukocyte Kinetics
HERRING, W.B. Blood 25 (1965), 522
PALMER, J.G.
- 43) HEUSCHNEIDER, J. Das Verhalten der Leukozyten und
der alkalischen Neutrophilenphos-
phatase nach zweifacher Appli-
kation eines Endotoxins und eines
aus Polysacchariden bestehenden
Pflanzenextrakts bei Kaninchen
Med. Diss. Gießen 1969
- 44) HOFF, F. Über Funktionsänderungen der Leu-
kozyten
Wien klin Wschr 72 (1960), 495

- 45) HUNSDORFER, N.W. Zur Behandlung der Grippe
 Ärztl Praxis VI / 8 (1954), 11
- 46) KILLMANN, S.-Ä. Mitotic Indices Of Human Bone
 CRONKITE, E.P. Marrow Cells. I. Number and Cy-
 FLIEDNER, T.M. tologic Distribution of Mitoses
 BOND, V.P. Blood 19 (1962), 743
- 47) KLEIN, K. Die primär chronische Polyar-
 thritis und ihre Behandlung
 Medizinische (1953), 555
- 48) KOCH, F.E. Experimentelle Untersuchungen
 UEBEL, H. über die örtliche Gewebswirkung
 der Echinacea purpurea Moench
 Arzneimittelforschung 3 (1953),
 16
- 49) dies. Experimentelle Untersuchungen
 über den Einfluß von Echinacea
 purpurea auf das Hypophysen-Ne-
 bennierenrinden-System
 Arzneimittelforschung 3 (1953),
 133
- 50) KOEPPEN, K.-M. Maturation and Proliferation
 BOLL, I. Capacity of Blood Cells from
 Untreated Acute Myeloid Leukemia
 and Its Prognostic Significance
 Klin Wschr 56 (1978), 797
- 51) KORTING, G.W. Beeinflussung des trypanociden
 BORN, W. Salvarsan-Effekts durch Hyalu-
 ronidase und einen Hyaluronidase-
 Inhibitor (Echinacin)
 Arzneimittelforschung 4 (1954),
 424

- 52) KORTING, G.W.
RASP, K.F. Erfahrungen mit einer zusätz-
lichen Echinacin-Behandlung der
Psoriasis vulgaris
Medizinische 45 (1954), 1504
- 53) KUHN, O. Echinacin und Phagocytenreaktion
Arzneimittelforschung 3 (1953),
194
- 54) KURNICK, J.E.
ROBINSON, W.A. Colony Growth of Human Periphe-
ral White Blood Cells in Vitro
Blood 37 (1971), 136
- 55) LAJTHA, L.G. The Culture of Bone - Marrow
Cells in Vitro
Brit med Bull 15 (1959), 47
- 56) LEIBOLD, G. Heilkräuter: Modernes Lexikon
der Pflanzen und Anwendungen
Falken Verlag
Niedernhausen 1980
- 57) LÖBE, J.
SCHADE, W. Untersuchungen zur "biologischen
Pause" (nach Fuchs)
Dtsch Ges Wes 4 (1948), 117
- 58) LORENZ, E.
MESSNER, H.
MUTZ, I. Leucocyto kinetic Studies during
Viral Hepatitis
Zschr Kinderh 113 (1972), 171
- 59) dies. Hepatitis epidemica und Knochen-
markdepression
Klin Pädiat 186 (1974), 37
- 60) LÜTZENKIRCHEN, A. Die Prüfung verschiedener Pharma-
ka auf ACTH- bzw. Cortison-Wirk-
samkeit mittels der eosinopeni-

schen Reaktion
Medizinische (1952), 926

- 61) MACVITTIE, T.J.
WALKER, R.I.
Endotoxin - Induced Alterations
in Canine Granulopoiesis: Colony-
Stimulating Factor, Colony-Form-
ing Cells in Culture, and
Growth of Cells in Diffusion
Chambers
Exp Hemat 6 (1978), 613
- 62) MADAUS, G.
Lehrbuch der Biologischen Heil-
mittel
Band II
Georg Thieme Verlag
Leipzig 1938
neugedruckt bei: Georg Olms Ver-
lag
Hildesheim, New York 1976
- 63) MADAUS & CO
ECHINACIN - zur Steigerung der
körpereigenen Abwehr
Dr. Madaus & Co., Köln 1981
- 64) MANIDAKIS, G.
Echinacin-Test als Knochenmark-
Funktionsprüfung vor und nach
Strahlentherapie
Med. Diss. Heidelberg 1968
- 65) MEIXNER, H.K.L.
Neue Wege in der Therapie der
chronischen Polyarthritits
Ärztl Praxis II, 50 (1950), -

- 66) MOSTBECK, A. Experimentelle Untersuchungen
STUDLAR, M. eines Pflanzenextraktes aus
 Echinacea purpurea Moench als
 unspezifischer Reizkörper
 Wien Med Wschr 112 (1962), 259
- 67) MÜNNICH, A. Die primär chronische Polyarthri-
 tis
 Münch Med Wschr 98 (1956), 579
- 68) ORINDA, D. Antivirale Aktivität von Inhalts-
DIEDERICH, J. stoffen der Composite Echinacea
WACKER, A. purpurea
 Arzneimittelforschung 23 (1973),
 1119
- 69) ORZECOWSKI, G. Unspezifische Resistenz
 Med Mschr 16 (1962), 8o5
- 70) ders. Pflanzliche Polysaccharide zur
 Steigerung der körpereigenen Ab-
 wehr
 Med Welt (1963), 293
- 71) ders. Über die Steigerung der unspezi-
 fischen Abwehrreaktionen des
 menschlichen Körpers
 Zschr ärztl Fortb 52 (1963), 441
- 72) OSTLUND, R.E. Evaluation of non steady state
BISHOP, C.R. neutrophil kinetics during endo-
ATHENS, J.W. toxin induced granulocytosis
 Proc Soc Exp Biol 137 (1971),
 763

- 73) QUESENBERRY, P. Effect of Endotoxin on Granulo-
MORLEY, A. poiesis and Colony-Stimulating
STOHLMAN, F. Factor
RICKARD, K. N Engl J Med 286 (1972), 227
HOWARD, D.
SMITH, M.
- 74) QUESENBERRY, P. The Effect of Endotoxin on
MORLEY, A. Murine Stem Cells
RYAN, M. J Cell Physiol 82 (1973), 239
HOWARD, D.
STOHLMAN, F.
- 75) REISNER, E.H. Tissue Culture of Bone Marrow
 II. Effect of Steroid Hormones
 on Hematopoiesis in Vitro
 Blood 27 (1966), 460
- 76) REUSS, D. Echinacin zur Behandlung des
 Keuchhustens
 Z Allg Med 55 (1979), 1324
- 77) RÖHLING, H. Die Proliferationskinetik der
 Granulozytopoese am ersten Kul-
 turtag bei "normalem" und mega-
 loblastischem Knochenmark
 Med. Diss. Berlin 1969
- 78) SALAHUDDIN, Z. Long-Term Suspension Cultures
MARKHAM, P.D. of Human Cord Blood Myeloid Cells
RUSCETTI, F.W. Blood 58 (1981), 931
GALLO, R.C.
- 79) SCHAUER, T. Pflanzenführer
CASPARI, C. Büchergilde Gutenberg
 Frankfurt am Main, Wien, Zürich
 1978

- 87) SUMNER, M.A. The Growth of Bone Marrow Cells
BRADLEY, T.R. in Liquid Culture
HODGSON, G.S. Br J Haemat 23 (1972), 221
CLINE, M.J.
FRY, P.A.
SUTHERLAND, L.
- 88) TOOGOOD, I.R.G. The Development of a Liquid
DEXTER, T.M. Culture System for the Growth
ALLEN, T.D. of Human Bone Marrow
SUDA, T. Leukemia Research 4 (1980), 449
LAJTHA, L.G.
- 89) TRONNIER, H. Das Ekzem, seine Einteilung und
Therapie
Münch med Wschr 109 (1967),
2118
- 90) TÜNNERHOFF, F.K. Untersuchungen am Menschen und
SCHWABE, H.K. am Tier über den Einfluß von
Echinacea-Konzentraten auf die
künstliche Bindegewebsbildung
nach Fibrin-Implantationen
Arzneimittelforschung 6 (1956),
330
- 91) TYMPNER, K.-D. Immunstatus bei chronischen In-
fekten der oberen Luftwege im
Kindesalter
Münch med Wschr 120 (1978),
1055
- 92) ÜHLEIN, E. RÖMPPS chemisches Wörterbuch
Deutscher Taschenbuch Verlag
München 1974

- 93) VOLHARD, E. Die Behandlung der Spondylar-
thrititis ankylopoetica
Med Welt 42 (1951), 1303
- 94) WACKER, A. Virushemmung mit Echinacea pur-
purea
HILBIG, W. Planta Medica 33 (1978), 89
- 95) WAGNER, H. Über ein immunstimulierendes
PROKSCH, A. Wirkprinzip aus Echinacea pur-
purea Moench
Zschr angew Phytotherapie 5
(1981), 1
- 96) WEISSBACH, L. Konservative Therapie der
WEGNER, G. Prostataerkrankungen
SCHWEIKERT, H.U. Therapiewoche 27 (1977), 6009
- 97) WEISSENFELS, I. Einwirkung von Corticosteroiden
BOLL, I. (Prednisolonacetat und Triamci-
nolon) auf menschliches Knochen-
mark in vitro
Klin Wschr 51 (1973), 907
- 98) WELFHÖNER, H.-H. Pharmakologie und Toxikologie
zweite, überarbeitete Auflage
Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1976
- 99) WENDT, F. Kleines Vademecum Haematologicum
Nordmark
überarbeitete Auflage der Aus-
gabe von 1974
Stormarn Verlag
Uetersen 1981

- 100) WILLEMZE, R.
WALKER, R.I.
HERION, J.C.
PALMER, J.G.
- Marrow Culture in Diffusion
Chambers in Rabbits: III. Effect
of Endotoxin and Leukocyte Pro-
ducts on Cell Production
Am J Hematology 7 (1979), 33

8. ANHANG

Die Wirkungen des Echinacins - alle Signifikanzberechnungen

a) Zugabe von 2,0 mg Echinacin pro ml Kultursuspension

Zeichenerklärung: $\uparrow\uparrow$ ($\downarrow\downarrow$) hochsignifikant mehr (weniger)
 $\uparrow$ ($\downarrow$) signifikant mehr (weniger)
 $\nearrow$ ($\swarrow$) zweifelhaft mehr (weniger)
 $\rightarrow$ ($\leftarrow$) nicht signifikant mehr (weniger)
 $\leftrightarrow$ gleich

		24 h		48 h		72 h	
CML	Mitosen	-	$\rightarrow$	-	$\rightarrow$	-	$\leftarrow$
	teil. Granul.	0,9	$\uparrow$	0,5	$\leftarrow$	0,9995	$\uparrow\uparrow$
	Stabkernige	0,9995	$\downarrow\downarrow$	0,9995	$\downarrow\downarrow$	0,9995	$\downarrow\downarrow$
	Segmentkernige	0,9995	$\uparrow\uparrow$	0,9995	$\uparrow\uparrow$	0,995	$\uparrow\uparrow$
	Makrophagen	0,95	$\uparrow$	0,5	$\leftarrow$	0,9	$\uparrow$
OMS	Mitosen	-	$\leftrightarrow$	-	$\leftarrow$	-	$\leftarrow$
	teil. Granul.	0,975	$\uparrow$	0,99	$\downarrow\downarrow$	0,975	$\downarrow$
	Stabkernige	0,9995	$\downarrow\downarrow$	0,2	$\leftarrow$	0,9995	$\downarrow\downarrow$
	Segmentkernige	0,999	$\uparrow\uparrow$	0,975	$\uparrow$	0,9995	$\uparrow\uparrow$
	Makrophagen	0,4	$\rightarrow$	0,9	$\uparrow$	0,995	$\uparrow\uparrow$
AL	Mitosen	-	$\leftrightarrow$	-	$\leftarrow$	-	$\leftrightarrow$
	teil. Granul.	0,995	$\downarrow\downarrow$	0,9995	$\downarrow\downarrow$	0,95	$\uparrow$
	Stabkernige	0,8	$\swarrow$	0,1	$\rightarrow$	0,995	$\uparrow\uparrow$
	Segmentkernige	0,9995	$\uparrow\uparrow$	0,9995	$\uparrow\uparrow$	0,1	$\rightarrow$
	Makrophagen	0,3	$\leftarrow$	0,5	$\rightarrow$	0,99	$\downarrow\downarrow$

Zyt.	Mitosen	0,5	→	0,995	↑↑	0,99	↑↑
unverä.	Mitosen ges.	0,999	↑↑				
KM	teil. Granul.	0,9995	↑↑	0,75	↘	0,6	→
	Stabkernige	0,9995	↓↓	0,9995	↓↓	0,9995	↓↓
	Segmentkernige	0,9995	↓↓	0,9995	↑↑	0,95	↑
	Makrophagen	0,9	↑	0,99	↑↑	0,9995	↑↑

b) Zugabe von 0,2 mg Echinacin pro ml Kultursuspension

Zeichenerklärung:	↑↑ (↓↓)	hochsignifikant mehr (weniger)
	↑ (↓)	signifikant mehr (weniger)
	↗ (↘)	zweifelhaft mehr (weniger)
	→ (←)	nicht signifikant mehr (weniger)
	↔	gleich

		24 h		48 h		72 h	
CML	Mitosen	-	→	-	←	-	←
	teil. Granul.	0,7	→	0,4	←	0,995	↓↓
	Stabkernige	0,9	↓	0,99	↓↓	0,9995	↑↑
	Segmentkernige	0,5	→	0,9995	↑↑	0,6	←
	Makrophagen	0,6	←	0,4	←	0,0	←
OMS	Mitosen	-	→	-	←	-	←
	teil. Granul.	0,8	↗	0,3	←	0,995	↓↓
	Stabkernige	0,9995	↓↓	0,995	↑↑	0,8	↘

		24 h	48 h	72 h
OMS	Segmentkernige	0,995 ↑↑	0,95 ↓	0,9995 ↑↑
	Makrophagen	0,975 ↓	0,75 ↘	0,0 ←
AL	Mitosen	- ↔	- →	- →
	teil. Granul.	0,9995 ↓↓	0,9995 ↓↓	0,1 ←
	Stabkernige	0,9995 ↑↑	0,9 ↑	0,6 ←
	Segmentkernige	0,95 ↑	0,999 ↑↑	0,4 ←
	Makrophagen	0,95 ↑	0,9995 ↑↑	0,5 ←
Zytol.	Mitosen	0,75 ↗	0,95 ↑	0,8 ↗
unverä.	Mitosen ges.	0,995 ↑↑		
KM	teil. Granul.	0,9995 ↑↑	0,975 ↓	0,5 ←
	Stabkernige	0,9995 ↓↓	0,1 ←	0,9 ↑
	Segmentkernige	0,995 ↓↓	0,975 ↑	0,95 ↓
	Makrophagen	0,999 ↑↑	0,4 ←	0,9995 ↑↑

Danksagung

Frau Prof. Dr. med. I. Boll möchte ich
für die Übernahme meiner Promotionsarbeit
sowie für ihre Ratschläge
und hilfreiche Unterstützung
bei der Bearbeitung des Themas
meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Weiterhin sei an dieser Stelle
recht herzlich
Herrn Priv.-Doz. Dr. med. K.-M. Koeppen
für wichtige Anregungen
bei der Durchführung der Arbeit
und
Frau A.-M. Kehl, MTA,
für Hilfestellungen im Labor gedankt.

Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft
unterstützt.

LEBENS LAUF

Am 8. Oktober 1957 wurde ich, Martin Krause, als zweites Kind des Zollbeamten Friedrich Krause und der vorexaminierten Apothekenangestellten Dagmar Krause, geb. Schröder, in Kleve geboren.

Von 1964 - 1968 besuchte ich in Düsseldorf die Gemeinschaftsschule an der Jahnstraße, von 1968 - 1977 das Staatliche Görres-Gymnasium in Düsseldorf, wo ich auch im Mai 1977 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Medizin begann ich im Herbst 1977 an der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, wechselte im Herbst 1980 an die Freie Universität Berlin und habe im April 1984 die Ärztliche Prüfung bestanden.

Seit August 1984 arbeite ich als Assistenzarzt in der Anästhesieabteilung des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln.

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen